

Einflüsse von Cortisol auf immunkompetente Zellen bei gesunden Probanden

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Humanmedizin

der Justus - Liebig - Universität Gießen

vorgelegt von Hans-Jürgen Ebbing

aus Fulda

Gießen

2003

Aus der Kerckhoff Klinik

Abteilung Rheumatologie

Leiter: Univ. Prof. Dr. med. K.L. Schmidt

Justus - Liebig - Universität Gießen

Gutachter: Prof. Dr. med. G. Neeck

Gutachter: Prof. Dr. med. R.G. Bretzel

Tag der Disputation: 23.06.2005

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Tabellenverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	XI
1	Einleitung.....1
1.1	Bekannte Rhythmen.....1
1.1.1	Cortisol.....1
1.1.2	Leukozyten.....3
1.1.3	Lymphozyten4
1.2	Homing und Adhäsionsmoleküle.....7
1.2.1	Das Multistep-Paradigma8
1.2.2	Moleküle involviert in Leukozyten Auswanderung9
1.2.3	Weitere Bedingungen der Auswanderung16
1.2.4	Rezirkulation junger Lymphozyten18
1.2.5	Homing von Gedächtniszellen.....20
1.3	Endokrinologische Auslöser24
1.4	Ziel der Arbeit.....26
2	Methodik.....27
2.1	Untersuchungsmethoden.....27
2.1.1	Untersuchte Probanden und Gruppenaufteilung.....27
2.1.2	Untersuchungsablauf28
2.1.3	Labormethoden30
2.2	Darstellung und Auswertung der Ergebnisse33
2.2.1	Cosinor-Methode33
2.2.2	Statistische Verfahren34

3	Ergebnisse.....	35
3.1	Cortisol	36
3.1.1	24h-Gruppe	36
3.1.2	Tag-Gruppe.....	37
3.1.3	Nacht-Gruppe	38
3.1.4	Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe	39
3.1.5	Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe	40
3.2	Leukozyten	41
3.2.1	24h-Gruppe	41
3.2.2	Tag-Gruppe.....	44
3.2.3	Nacht-Gruppe	46
3.2.4	Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe	48
3.2.5	Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe	49
3.3	Monozyten	50
3.3.1	24h-Gruppe	50
3.3.2	Tag-Gruppe.....	53
3.3.3	Nacht-Gruppe	55
3.3.4	Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe	57
3.3.5	Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe	58
3.4	Granulozyten	59
3.4.1	24h-Gruppe	59
3.4.2	Tag-Gruppe.....	62
3.4.3	Nacht-Gruppe	64
3.4.4	Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe	66
3.4.5	Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe	67
3.5	Lymphozyten	68
3.5.1	24h-Gruppe	68
3.5.2	Tag-Gruppe.....	71
3.5.3	Nacht-Gruppe	73
3.5.4	Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe	75
3.5.5	Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe	76

3.6	T-Lymphozyten	77
3.6.1	24h-Gruppe	77
3.6.2	Tag-Gruppe	80
3.6.3	Nacht-Gruppe.....	82
3.6.4	Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe.....	84
3.6.5	Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe.....	85
3.7	B-Lymphozyten	86
3.7.1	24h-Gruppe	86
3.7.2	Tag-Gruppe	89
3.7.3	Nacht-Gruppe.....	91
3.7.4	Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe.....	93
3.7.5	Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe.....	94
3.8	Aktivierte T-Lymphozyten	95
3.8.1	24h-Gruppe	95
3.8.2	Tag-Gruppe	98
3.8.3	Nacht-Gruppe.....	100
3.8.4	Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe.....	102
3.8.5	Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe.....	103
3.9	Helfer-Zellen.....	104
3.9.1	24h-Gruppe	104
3.9.2	Tag-Gruppe	107
3.9.3	Nacht-Gruppe.....	109
3.9.4	Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe.....	111
3.9.5	Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe.....	112
3.10	Suppressor-Zellen	113
3.10.1	24h-Gruppe	113
3.10.2	Tag-Gruppe	116
3.10.3	Nacht-Gruppe.....	118
3.10.4	Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe.....	120
3.10.5	Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe.....	121

3.11	Natürliche Killer-Zellen	122
3.11.1	24h-Gruppe	122
3.11.2	Tag-Gruppe	125
3.11.3	Nacht-Gruppe	127
3.11.4	Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe	129
3.11.5	Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe	130
4	Diskussion	131
4.1	Cortisol	131
4.2	Leukozyten	132
4.3	Monozyten	134
4.4	Granulozyten	135
4.5	Lymphozyten	137
4.6	Lymphozyten Subpopulationen	138
4.6.1	T-, B- und aktivierte T-Lymphozyten	139
4.6.2	Helfer- und Suppressor-Zellen	141
4.7	Natürliche Killer-Zellen	142
4.8	Homing	143
5	Zusammenfassung	147
6	Literaturverzeichnis	149
Anhang	A-I
Anhang 1	A-I
Anhang 2	A-VIII
Anhang 3	A-XII

Danksagung

Lebenslauf

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1-1:	Adhäsionsmoleküle und deren Aufgaben und Verteilung	10
Tabelle 1-2:	Menschliche CC Chemokine und deren Rezeptoren.....	13
Tabelle 1-3:	Menschliche CXC Chemokine und deren Rezeptoren.....	14
Tabelle 2-1:	Geschlecht- und Altersverteilung Gruppe 1 / 24h-Gruppe	27
Tabelle 2-2:	Geschlecht- und Altersverteilung Gruppe 2 / Tag-Gruppe	27
Tabelle 2-3:	Geschlecht- und Altersverteilung Gruppe 3 / Nacht-Gruppe.....	28
Tabelle 2-4:	Zeitliche Verteilung der Blutentnahmen zur Bestimmung von Cortisol und allen Zelltypen	30

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1:	Circadianer Rhythmus von Cortisol und ACTH.....	2
Abbildung 1-2:	Circadianer Rhythmus von Leukozyten (WBC) und Neutrophilen.....	4
Abbildung 1-3:	Circadianer Rhythmus von Cortisol und Lymphozyten-Subpopulationen.....	5
Abbildung 1-4:	Das Multistep-Paradigma.....	9
Abbildung 2-1:	Darstellung der Cosinor-Methode.....	34
Abbildung 3-1:	Cortisol- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe	36
Abbildung 3-2:	Cortisolkurve der Tag-Gruppe	37
Abbildung 3-3:	Cortisolkurve der Nacht-Gruppe.....	38
Abbildung 3-4:	Vergleich der Cortisolwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	39
Abbildung 3-5:	Vergleich der Cortisolwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	40
Abbildung 3-6:	Leukozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe	41
Abbildung 3-7:	Vergleich der Cortisol- und Leukozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%	42
Abbildung 3-8:	Vergleich der Cortisol und Leukozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe	43
Abbildung 3-9:	Leukozytenkurve der Tag-Gruppe	44
Abbildung 3-10:	Vergleich der Cortisol- und Leukozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	45
Abbildung 3-11:	Leukozytenkurve der Nacht-Gruppe.....	46
Abbildung 3-12:	Vergleich der Cortisol- und Leukozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	47
Abbildung 3-13:	Vergleich der Leukozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	48
Abbildung 3-14:	Vergleich der Leukozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	49
Abbildung 3-15:	Monozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe	50
Abbildung 3-16:	Vergleich der Cortisol- und Monozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%	51

Abbildung 3-17:	Vergleich der Cortisol und Monozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe.....	52
Abbildung 3-18:	Monozytenkurve der Tag-Gruppe	53
Abbildung 3-19:	Vergleich der Cortisol- und Monozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	54
Abbildung 3-20:	Monozytenkurve der Nacht-Gruppe.....	55
Abbildung 3-21:	Vergleich der Cortisol- und Monozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	56
Abbildung 3-22:	Vergleich der Monozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100	57
Abbildung 3-23:	Vergleich der Monozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	58
Abbildung 3-24:	Granulozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe.....	59
Abbildung 3-25:	Vergleich der Cortisol- und Granulozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%	60
Abbildung 3-26:	Vergleich der Cortisol und Granulozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe.....	61
Abbildung 3-27:	Granulozytenkurve der Tag-Gruppe	62
Abbildung 3-28:	Vergleich der Cortisol- und Granulozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	63
Abbildung 3-29:	Granulozytenkurve der Nacht-Gruppe	64
Abbildung 3-30:	Vergleich der Cortisol- und Granulozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	65
Abbildung 3-31:	Vergleich der Granulozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100	66
Abbildung 3-32:	Vergleich der Granulozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100.....	67
Abbildung 3-33:	Lymphozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe	68
Abbildung 3-34:	Vergleich der Cortisol- und Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%	69
Abbildung 3-35:	Vergleich der Cortisol und Lymphozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe.....	70
Abbildung 3-36:	Lymphozytenkurve der Tag-Gruppe	71
Abbildung 3-37:	Vergleich der Cortisol- und Lymphozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	72
Abbildung 3-38:	Lymphozytenkurve der Nacht-Gruppe.....	73

Abbildung 3-39:	Vergleich der Cortisol- und Lymphozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	74
Abbildung 3-40:	Vergleich der Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	75
Abbildung 3-41:	Vergleich der Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	76
Abbildung 3-42:	T-Lymphozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe	77
Abbildung 3-43:	Vergleich der Cortisol- und T-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%	78
Abbildung 3-44:	Vergleich der Cortisol und T-Lymphozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe	79
Abbildung 3-45:	T-Lymphozytenkurve der Tag-Gruppe	80
Abbildung 3-46:	Vergleich der Cortisol- und T-Lymphozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	81
Abbildung 3-47:	T-Lymphozytenkurve der Nacht-Gruppe.....	82
Abbildung 3-48:	Vergleich der Cortisol- und T-Lymphozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	83
Abbildung 3-49:	Vergleich der T-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	84
Abbildung 3-50:	Vergleich der T-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	85
Abbildung 3-51:	B-Lymphozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe	86
Abbildung 3-52:	Vergleich der Cortisol- und B-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%	87
Abbildung 3-53:	Vergleich der Cortisol und B-Lymphozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe	88
Abbildung 3-54:	B-Lymphozytenkurve der Tag-Gruppe.....	89
Abbildung 3-55:	Vergleich der Cortisol- und B-Lymphozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	90
Abbildung 3-56:	B-Lymphozytenkurve der Nacht-Gruppe	91
Abbildung 3-57:	Vergleich der Cortisol- und B-Lymphozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	92
Abbildung 3-58:	Vergleich der B-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	93
Abbildung 3-59:	Vergleich der B-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	94

Abbildung 3-60:	Aktiviert T-Lymphozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe.....	95
Abbildung 3-61:	Vergleich der Cortisol- und aktivierten T-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%	96
Abbildung 3-62:	Vergleich der Cortisol und aktivierten T-Lymphozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe.....	97
Abbildung 3-63:	Aktiviert T-Lymphozytenkurve der Tag-Gruppe.....	98
Abbildung 3-64:	Vergleich der Cortisol- und aktivierten T-Lymphozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	99
Abbildung 3-65:	Aktiviert T-Lymphozytenkurve der Nacht-Gruppe.....	100
Abbildung 3-66:	Vergleich der Cortisol- und aktivierten T-Lymphozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	101
Abbildung 3-67:	Vergleich der aktivierten T-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	102
Abbildung 3-68:	Vergleich der aktivierten T-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	103
Abbildung 3-69:	Helfer-Zellen- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe.....	104
Abbildung 3-70:	Vergleich der Cortisol- und Helfer-Zellen-Werte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%	105
Abbildung 3-71:	Vergleich der Cortisol und Helfer-Zellen Cosinorkurven der 24h-Gruppe.....	106
Abbildung 3-72:	Helfer-Zellen-Kurve der Tag-Gruppe	107
Abbildung 3-73:	Vergleich der Cortisol- und Helfer-Zellen-Werte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	108
Abbildung 3-74:	Helfer-Zellen-Kurve der Nacht-Gruppe.....	109
Abbildung 3-75:	Vergleich der Cortisol- und Helfer-Zellen-Werte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	110
Abbildung 3-76:	Vergleich der Helfer-Zellen-Werte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	111
Abbildung 3-77:	Vergleich der Helfer-Zellenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	112
Abbildung 3-78:	Suppressor-Zellen- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe	113
Abbildung 3-79:	Vergleich der Cortisol- und Suppressor-Zellenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%	114
Abbildung 3-80:	Vergleich der Cortisol und Suppressor-Zellen Cosinorkurven der 24h-Gruppe.....	115

Abbildung 3-81:	Suppressor-Zellen-Kurve der Tag-Gruppe	116
Abbildung 3-82:	Vergleich der Cortisol- und Suppressor-Zellenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	117
Abbildung 3-83:	Suppressor-Zellen-Kurve der Nacht-Gruppe	118
Abbildung 3-84:	Vergleich der Cortisol- und Suppressor-Zellenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	119
Abbildung 3-85:	Vergleich der Suppressor-Zellenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	120
Abbildung 3-86:	Vergleich der Suppressor-Zellenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	121
Abbildung 3-87:	Natürliche Killer-Zellen- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe ...	122
Abbildung 3-88:	Vergleich der Cortisol- und natürlichen Killer-Zellenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%	123
Abbildung 3-89:	Vergleich der Cortisol und natürlichen Killer-Zellen Cosinorkurven der 24h-Gruppe.....	124
Abbildung 3-90:	Natürliche Killer-Zellenkurve der Tag-Gruppe	125
Abbildung 3-91:	Vergleich der Cortisol- und natürlichen Killer-Zellenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	126
Abbildung 3-92:	Natürliche Killer-Zellenkurve der Nacht-Gruppe.....	127
Abbildung 3-93:	Vergleich der Cortisol- und natürlichen Killer-Zellenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	128
Abbildung 3-94:	Vergleich der natürlichen Killer-Zellenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%	129
Abbildung 3-95:	Vergleich der natürlichen Killer-Zellenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%	130
Abbildung 4-1:	Tagesverläufe der Lymphozyten-Subpopulationen im Vergleich zum Cortisol, 8.00 = 100%	139

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	adrenocorticotropes Hormone
CLA	Cutaneous leukocyte antigen
CRF	Corticotropin releasing factor
FACS	Fluorescent activated cell sorter
GDP	Guanosindiphosphat
GlyCAM	Glycosylation-dependent cell adhesion molecule
GTP	Guanosintriphosphat
HEV	High endothelial venules
HGF	Hepatocyte growth factor
HVL	Hypophysenvorderlappen
ICAM	Intercellular cell adhesion molecule
IEL	Intraepithelial lymphocytes
IFN- γ	Interferon- γ
IgSF	Immunoglobulin gene superfamily
IL	Interleukin
JAM	Junctional adhesion molecule
LAD	Leukocyte adhesion deficiency syndrome
LARC	Liver and Activation regulated Chemokine
LFA	Lymphocyte function-associated antigen
MadCAM	Mucosal addressin cell adhesion molecule
MIP	Monocyte inhibitory protein
NK-Zellen	Natürliche Killer-Zellen
NNR	Nebennierenrinde
PSGL	P-Selektin Glykoprotein Liganden
SD	Standardabweichung
TECK	Thymus expressed Chemokine
TFN- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
TGF	Transforming growth factor
TH1	T-Helfer-1 Typ
VAP-1	Vascular adhesion protein-1
VCAM	Vascular cell adhesion molecule

VLA

Very late antigen

1 Einleitung

Physiologische Veränderungen im Sinne einer Tagesrhythmik sind für verschiedene Blutparameter schon früh erhoben worden. [Halberg 1980, Swoyer et al. 1989, Palm et al. 1996, Suzuki et al. 1997]. Schon 1943 wurde das erste Mal von einer circadianen Rhythmik beim Cortisol ausgegangen [Pincus 1943].

Der Zusammenhang der Tagesrhythmik immunkompetenter Zellen und der Serumschwankungen des Cortisol war ebenfalls aufgefallen und untersucht worden [Fauci 1979, Scales et al. 1988]. Auch bei verschiedenen Erkrankungen, wie der rheumatoiden Arthritis, dem Asthma bronchiale, oder chronisch entzündlichen Darmerkrankungen konnten Schwankungen endokriner und immunologischer Parameter festgestellt werden [Neeck et al. 1987, Kasper et al. 1989, Kirkham und Panyi 1989].

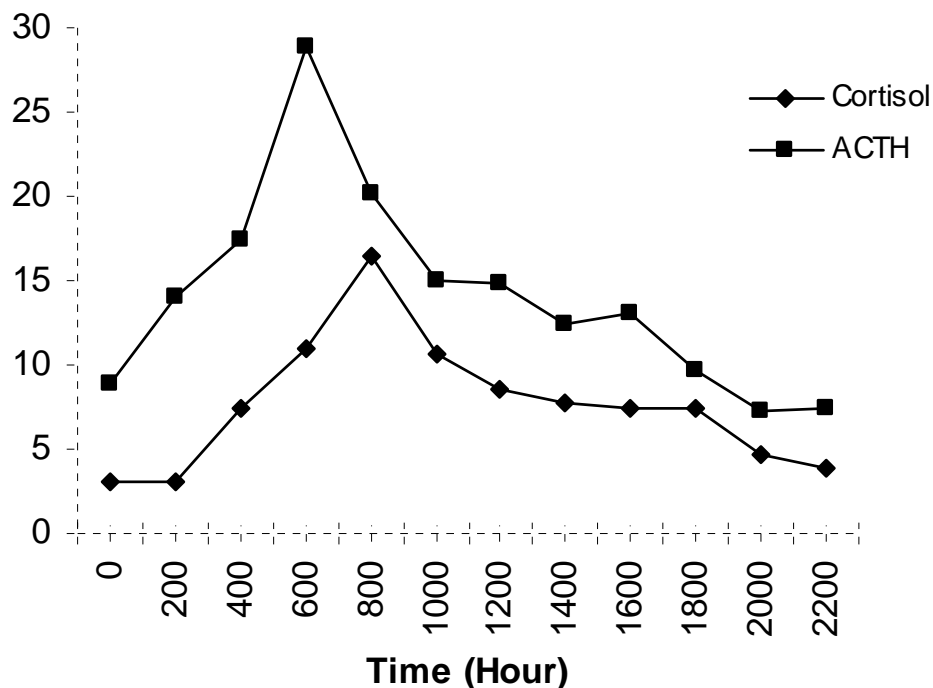
1.1 Bekannte Rhythmen

1.1.1 Cortisol

Der bekannte Rhythmus des Cortisol wurde bereits 1943 entdeckt. In vielen Untersuchungen wurde er immer wieder bestätigt und seine Robustheit auch gegen verschiedenste Einflüsse getestet.

Das Maximum der Cortisolsekretion liegt zwischen 6 und 8 Uhr am Morgen um dann über den Tag hin abzusinken. In den Abend- und Nachtstunden wird fast kein Cortisol mehr ausgeschüttet (Abb. 1-1).

Abbildung 1-1: Circadianer Rhythmus von Cortisol und ACTH



Aus Kronfol et al. 1997, Cortisol in µg/dl, ACTH in pg/dl

Dieser circadiane Rhythmus bleibt auch nach Wechsel in andere Zeitzonen zunächst für längere Zeit stabil [Weizmann et al. 1975], jedoch wird Cortisol durch Faktoren wie Stress oder körperliche Belastung durchaus beeinflusst [Carli et al. 1992].

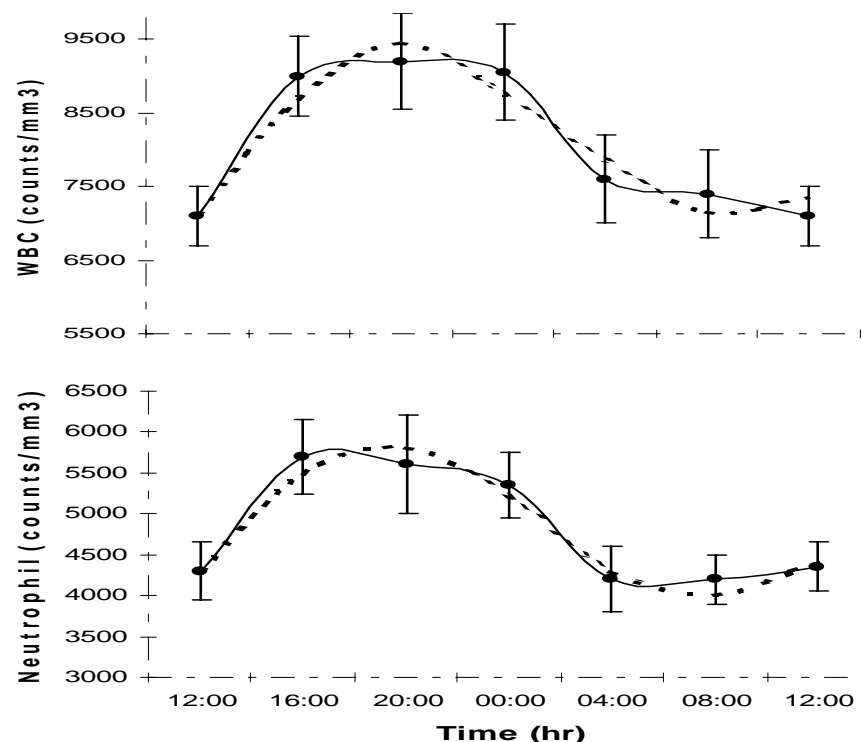
Cortisol wird über einen Feedbackmechanismus kontrolliert vom HVL (Hypophysenvorderlappen) ausgeschüttet. In diesen Regelkreis ist der Hypothalamus, der durch CRF (Corticotropin Releasing Factor) auf den HVL Einfluss nimmt, als oberste Leitstelle vorgeschaltet. Der Hypophysenvorderlappen steuert dann über die pulsatile Abgabe von ACTH (adrenocorticotropes Hormon) die Freisetzung von Cortisol aus der Nebennierenrinde (NNR) [Krieger et al. 1971]. Auch ACTH weist einen dem Cortisol entsprechenden circadianen Rhythmus auf [Krieger 1979], der jedoch um etwa 2 Stunden verschoben verläuft (siehe Abb. 1-1).

1.1.2 Leukozyten

Leukozyten zeigen einen Rhythmus mit Spitzenwerten am Nachmittag und frühen Abend und entsprechend einem Minimum in den Morgenstunden [Halberg 1980]. Dieser Rhythmus ist ebenfalls relativ stabil und wird nicht durch Schlaf oder Nahrungsaufnahme verändert, wie bereits 1927 herausgefunden worden war [Shaw 1927]. Dass auch Leukozytenzahlen durch körperliche Tätigkeit verändert werden, zeigte sich in einer Untersuchung von Weicker [Weicker und Werle 1991]. Leukozyten reagieren auf Glucocorticoidgabe mit einem Anstieg, der auch bei Erhöhung des körpereigenen Cortisol auftritt [Fauci 1979]. Überfunktion der NNR führt zu einer Leukozytose, Morbus Addison zu niedrigen Leukozytenzahlen [Labhardt 1978, Baum und Ziff 1985].

Der größte Teil der Leukozyten besteht aus der Gruppe der Granulozyten, die wiederum zum überwiegenden Teil von den Neutrophilen gebildet werden, welche daher auch das Bild der Rhythmik am stärksten beeinflussen. Bekanntermaßen zeigt sich bei den Neutrophilen ein Maximum in den Abendstunden mit einem Minimum am Morgen [Signore et al. 1985]. Dem entgegengesetzt steht der Rhythmus der Eosinophilen mit Maximalwerten gegen 6 Uhr und einem Minimum am frühen Abend [de Nicola et al. 1984]. Da der proportionale Anteil der Eosinophilen jedoch gering ist im Vergleich zu den Neutrophilen bestimmen sie den circadianen Verlauf der gesamten Granulozyten kaum. Nach Gabe von Glucocorticoiden verhalten sich neutrophile und eosinophile Granulozyten ebenfalls unterschiedlich. Eosinophile zeigen verminderte Werte, während Neutrophile, und damit auch die Gesamtzahl der Granulozyten, ansteigen [Fauci et al. 1976, Fauci 1979].

Abbildung 1-2: Circadianer Rhythmus von Leukozyten (WBC) und Neutrophilen



Aus Akbulut et al. 1999

Monozyten zeigen in einigen Studien eine Rhythmik mit Maximum gegen 12 Uhr und Minimum gegen 24 Uhr [Levi et al. 1985, Suzuki et al. 1997]. Andere Studien kommen jedoch zu einem gegensätzlichen Ergebnis mit Maximum in der Nacht und Minimum am Morgen [Born et al 1997]. Wiederum andere fanden keinerlei aussagefähige Rhythmik bei Monozyten [Kronfol et. Al 1997]. Die Reaktion auf Gabe von Glucocorticoiden ist eine Verminderung der Monozyten, die ihren maximalen Ausschlag nach etwa 4-6 Stunden erreicht [Webel et al. 1974, Fauci 1976 und 1979].

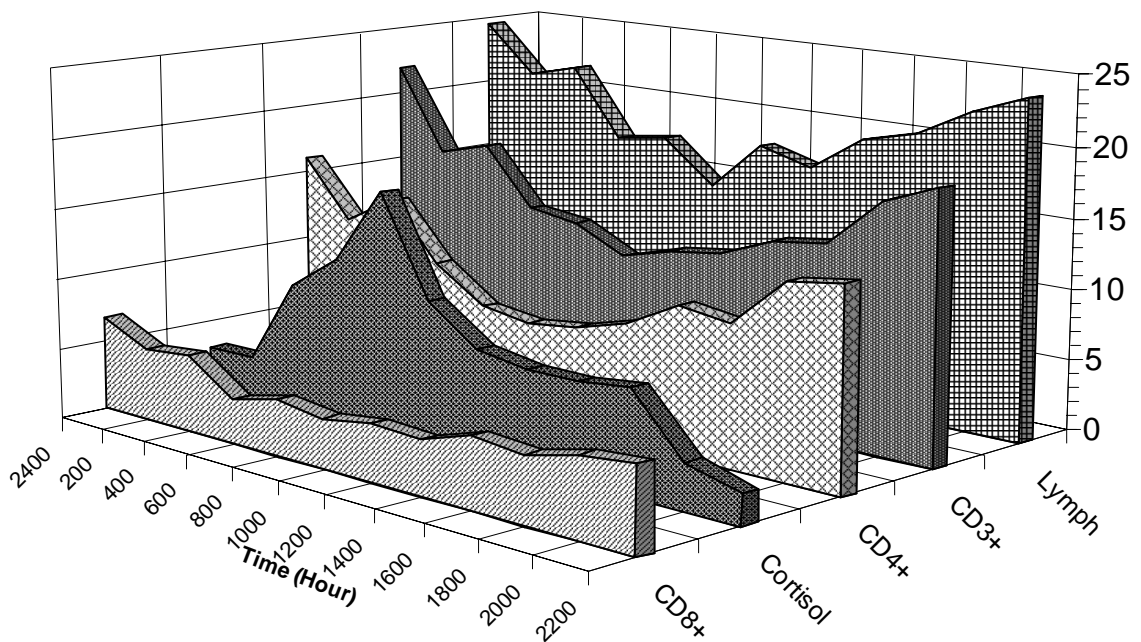
1.1.3 Lymphozyten

Über den circadianen Rhythmus der Lymphozyten wurde schon früh [Elmadjian und Pincus 1946] berichtet und er wurde durch viele Untersuchungen bestätigt. Er zeichnet sich durch ein morgendliches Minimum und nächtliches Maximum aus, das dem Cortisolspiegel

entgegengesetzt verläuft [Abo et al. 1981]. Erkrankungen wie Morbus Addison und Morbus Cushing führen zum Anstieg bzw. zum Abfall der Werte [Labhardt 1978, Thomson 1980]. Gabe von Glucocorticoiden führt zu einer transitorischen Lymphopenie [Fauci und Dale 1974], ebenfalls hat körperliche Betätigung und der damit verbundene Cortisolanstieg einen Lymphozytenabfall zu Folge [Weicker und Werle 1991].

Da die verschiedenen Lymphozyten-Subpopulation unterschiedliche Rhythmen aufweisen, konnte in verschiedenen Studien ab 1974 aufgezeigt werden [Yu et al. 1974].

Abbildung 1-3: Circadianer Rhythmus von Cortisol und Lymphozyten-Subpopulationen



Aus Kronfol et al. 1997, Cortisol in $\mu\text{g/dl}$, Zellzahlen in $1 \times 100/\text{mm}^3$

Die meisten Subpopulation – T-, B-, Helfer-, Suppressor-Zellen – zeigen eine Rhythmik die dem Verlauf der gesamten Lymphozyten entspricht (siehe Abb. 1-2), mit Minimum zwischen 9 und 11 Uhr und einem Maximum in den Abendstunden [Bertouch et al. 1983, Ritchie et al. 1983, Signore et al. 1985, Carandente et al. 1988]. In verschiedenen Studien

wurden aber dennoch immer wieder abweichende Ergebnisse gefunden. So ist der Verlauf der Suppressor-Zellen mal als 24-Stunden-Rhythmik bestätigt worden und mal von den gleichen Untersuchern eine zwölf Stunden Periodik festgestellt worden [Levi et al. 1983 und 1988]. Auch in anderen Untersuchungen wurden teilweise keine Rhythmen für B-Zellen, Killer-Zellen und Suppressor-Zellen gefunden [Signore et al. 1985]. Ebenso ist die Angabe der Maxima und Minima in den Studien unterschiedlich, wobei Helfer-Zellen und die gesamten T-Zellen sehr einheitliche Ergebnisse liefern.

Die Gegenläufigkeit der Rhythmen der Lymphozyten zum Cortisol wurde in vielen Studien deutlich hervorgehoben und ein kausaler Zusammenhang als wahrscheinlich angenommen [Bertouch et al. 1983, Ritchie et al. 1983], wobei die natürlichen Killer-Zellen eine Ausnahme zu bilden scheinen [Carandente et al. 1988]. Dass die Gabe von Glucocorticoiden zur Abnahme der Anzahl von T-Lymphozyten führt, bei gleichzeitiger Umverteilung in das Knochenmark, hatte Fauci 1975 im Tiermodell gezeigt und später am Menschen nachgewiesen [Fauci 1975, Fauci 1975]. Auch in anderen Studien konnte der Einfluss von exogenen Glucocorticoiden auf Lymphozyten aufgezeigt werden.

Die Schwankungen bei immunkompetenten Zellen kommen durch eine Umverteilung im intra- und extravaskulären Raum zustande. Glucocorticoide führen durch Freisetzung von neutrophilen Leukozyten aus dem Knochenmark und gleichzeitiger Hemmung einer Abwanderung ins Gewebe zu einer Leukozytose [Fauci 1975]. Lymphozyten verhalten sich unter Corticoideinfluss entgegengesetzt und wandern unter anderem in Speichergewebe wie die Milz oder das Knochenmark, wodurch es zu einer Lymphopenie kommt. Die spezifischen Lymphozyten-Subpopulationen

verhalten sich hierbei unterschiedlich (siehe oben). Verstärkte Schwankungen finden sich daher auch bei Morbus Addison oder Morbus Cushing, der Physiologie des Krankheitsbildes entsprechend in gegensätzlicher Richtung [Labhardt 1978].

In den letzten Jahren wurde vor allem ein stärkeres Augenmerk auf das Homing der Lymphozyten gerichtet [Picker 1992, Mackay 1993, Picker 1994, Kraal und Mebius 1997, Salmi und Jalkanen 1997, Syrbe et al. 1999] um die Umverteilungsmechanismen der verschiedenen Zelltypen besser zu verstehen.

1.2 Homing und Adhäsionsmoleküle

Eine der funktionalen Eigenschaften von Lymphozyten, die diese während ihrer Differenzierung erwerben, ist die definierte Rezirkulation von reifen Lymphozyten. Hierdurch kontrollieren sie, durch kontinuierliche Rezirkulation aus dem Blut in lymphatische und nicht-lymphatische Organe, durch den Körper. Diese Rezirkulation ist durch einen hohen Grad an Spezifikation gekennzeichnet, so dass unterschiedliche Untergruppen von Lymphozyten hauptsächlich in bestimmte Gewebe wandern.

Dies bedeutet, dass zirkulierende junge Lymphozyten vorzugsweise durch “high endothelial venules (HEV)” von Lymphknoten auswandern, und von dort aus in die sekundären lymphatischen Organe zirkulieren. Ohne Kontakt mit einem für sie durch spezifische Rezeptoren markierten Antigen, rezirkulieren sie durch die efferenten Lymphwege zurück ins Blut [Mackay et al. 1990]. Demgegenüber steht die Vervielfältigung und Umwandlung zu Memory/Effektorzellen, nach Antreffen mit dem für sie spezifischen Antigen in den lymphatischen Organen. Diese Rezirkulation findet auch in Abwesenheit von Entzündung statt. Jedoch werden Lymphozyten von Entzündungsgeweben wesentlich stärker rekrutiert, als

das in der normalen Rezirkulation der Fall ist. Mehr noch, auch Leukozyten, welche unter physiologischen Bedingungen nicht rezirkulieren, wie Granulozyten oder Monozyten, werden von Entzündungsgebieten in einer koordinierten Weise rekrutiert [Springer 1995, Dunon et al. 1996, Ebnet et al. 1996]. Hieraus lässt sich auf einen unterschiedlichen Zirkulationsweg schließen, durch welchen diese Zellen, nachdem sie den Lymphknoten verlassen haben, in die Grenzgewebe wie Haut und Mucosa wandern [Mackay 1992].

1.2.1 Das Multistep-Paradigma

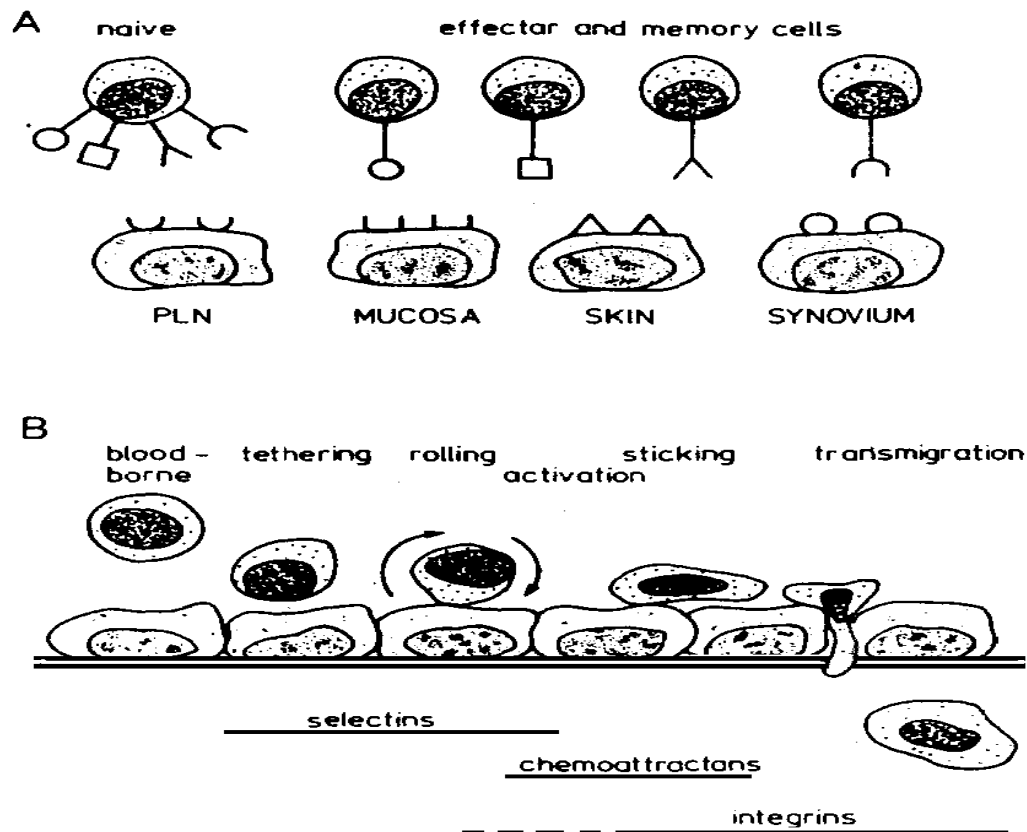
Verschiedene Studien haben übereinstimmend in den letzten Jahren zu dem sogenannten „Multistep-Paradigma“ geführt [Butcher 1991, Springer 1994]. Dieses Paradigma beschreibt den gesamten Prozess der Auswanderung als einen drei Stufen Vorgang, bestehend aus:

1. Der Rollen von Leukozyten auf dem Endothel
2. Der Aktivierung von Integrinen
3. Der Haftung mit anschließender Auswanderung aus dem Gefäßlumen (Abb. 1-4).

Jeder dieser Schritte benötigt verschiedene Oberflächenrezeptoren sowohl auf der Zell- als auch der Gefäßseite, wodurch eine vielschichtige Wechselwirkung, von durch Leukozyten und deren Subpopulationen exprimierten „Homing-Rezeptoren“ einerseits und Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche des Endothels andererseits, entsteht [Dunon et al. 1996, Von Andrian et al. 2000]. Zusätzlich modulieren chemische Botenstoffe die Aktivität der hierbei beteiligten Membranmoleküle und erhöhen dadurch die Spezifität und den Rückkopplungsmechanismus. Diese Botenstoffe, Chemokine (von „chemotaktische Zytokine“) genannt, sind ähnlich zu

Zytokinen, jedoch deutlich kleiner und benutzen G-Protein gekoppelte Rezeptoren [Baggiolini 1998, Baggiolini 2001].

Abbildung 1-4: Das Multistep-Paradigma



B) Lymphozyten interagieren mit dem Endothel bei der Migration in drei Stufen: 1) Rollen entlang des Endothels („Tethering and rolling“), 2) Aktivierung der Lymphozyten-Integrine und („Activation“) 3) feste Haftung und Migration („Sticking and transmigration“). A) Jeder Schritt wird durch verschiedenen Adhäsionsmoleküle und Rezeptoren kontrolliert. Junge Lymphozyten zeigen verschiedene Rezeptoren, reife Lymphozyten nur noch spezifische. [nach Salmi und Jalkanen 1997]

1.2.2 Moleküle involviert in Leukozyten Auswanderung

Wie oben angesprochen, haben sowohl die Oberflächenrezeptoren der Leukozyten und des Endothels, als auch die lokal freigesetzten löslichen Chemokine einen Einfluss auf die Auswahl der auswandernden Leukozyten und des Zielgewebes. Um diese hoch motilen Funktionen zu erreichen, sind

Leukozyten mit einer großen Auswahl von Membranrezeptoren ausgestattet, welche ihnen eine Adhäsion trotz der großen Scherkräfte ermöglicht (Tab. 1-1 gibt eine Auswahl).

Tabelle 1-1: Adhäsionsmoleküle und deren Aufgaben und Verteilung

Familie	Rezeptor	Zelle	Ligand	Ziel	Aufgabe	Aufgabe / Homingziel
Integrin	LFA-1	Leukozyten	ICAM-1 ICAM-2 ICAM-3	HEV (Lymphknoten)	Adhäsion	breites Spektrum
Integrin	VLA-4	Lymphozyten Monozyten	VCAM-1	Aktiviertes Endothel	Rollen und Adhäsion	Entzündungs-gewebe
Integrin	$\alpha 4\beta 7$	Lymphozyten Monozyten	MadCAM-1 E-Cadherin VCAM-1	Intestinale Mucosa Peyer-Plaques	Rollen und Adhäsion	Darm
Selektin	L-Selektin	Leukozyten	GlyCAM CD34 MadCAM-1	HEV (Lymphknoten)	Haften und Rollen	Periphere Lymphknoten
	CLA	Gedächtniszellen	E-Selektin	Endothel	Haften und Rollen	Haut
Sialomucin	PSGL-1	Gedächtniszellen	P- Selektin E-Selektin	Endothel	Haften und Rollen	Haut
IgSF	CD31	Leukozyten Endothelzellen	CD31	Endothelzellen Leukozyten	Haften und Rollen	breites Spektrum

Nach Burastero et al., 1998; Drillenburger und Pals, 2000; Pals et al., 1997; Salmi und Jalkanen, 1997

1.2.2.1 Erste Bindung und Rollen

Die erste Bindung der Leukozyten ist als eine labile Adhäsion an die Gefäßwand zu verstehen, welche ein weiteres Rollen der Zellen auf dem Endothel mit dem Blutstrom zulässt. Dieser Prozess wird weitestgehend von Selektinen vermittelt, eine Familie von Calcium abhängigen Membranproteinen [Springer 1995].

L-Selektin wird von praktisch allen zirkulierenden Leukozyten und Untergruppen exprimiert [Gallatin et al. 1983]. Mindestens zwei Liganden für L-Selektin werden auf HEV gefunden: „glycosylation-dependent cell adhesion molecule-1“ (GlyCAM-1), welches sezerniert wird, und CD34,

welches auf der Zelloberfläche dargeboten wird [Baumheter et al. 1993, Lasky et al. 1992].

P-Selektin ist in Weibel-Palade-Körpern in Endothelzellen gespeichert und wird von dort aus als Reaktion auf Entzündungsmediatoren rasch exprimiert. P-Selektin bindet spezifisch an den P-Selektin Glykoprotein Liganden (PSGL-1), der auf den Oberflächen von Neutrophilen, Monozyten und natürlichen Killer-Zellen vorkommt [Moore et al. 1992].

E-Selektin wird auf Endothelzellen als Antwort auf pro-inflammatorische Zytokine exprimiert, wie IL-1 oder TFN- α . Auch bakterielle Produkte spielen eine Rolle, in jedem Fall muss E-Selektin jedes Mal neu synthetisiert werden [Bevilacqua et al. 1987].

„Human vascular adhesion protein-1“ (VAP-1) gilt als Vertreter von Proteinen die auf den Zellen der HEV für eine erste Bindung sorgen, jedoch nicht zu den Selektinen gehört [Salmi et al. 1992]. Seine Wirkung tritt nur unter Scherkräften aus, wie sie beim Blutfluss an den Endothelwänden vorkommen, und nicht unter statischen Bedingungen und ist vor allem auf T-Lymphozyten ausgerichtet [Salmi et al. 2000].

1.2.2.2 Aktivierung

Chemokine sind wichtig für die Aktivierung der Integrinadhäsion und die Ausrichtung der Leukozytenmigration [Baggiolini 1998]. Durch Ligandenbindung, über sogenannte G-Proteine, wird der Austausch von GDP mit GTP ausgelöst, wodurch eine Aktivierung von verschiedenen „second messengern“, darunter auch die, welche die Aufwärtsregulierung der Integrinfunktion bewirken, vermittelt wird [Detmers et al. 1990, Carr et al. 1994, Roth et al. 1998]. Pertussistoxin z.B. behindert diesen Austauschvorgang und unterdrückt dadurch das Anhalten der Lymphozyten, nicht jedoch das Rollen entlang des Endothels [Bargatze und

Butcher 1993]. Diese Beobachtung unterstreicht die Wichtigkeit des Aktivierungsvorganges der Integrine. Eine Anzahl von Botenstoffen sind als Kandidaten für die Integrinaktivierung beschrieben worden. Darunter mit am besten charakterisiert sind RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β , IP-10 and IL-8 [Baggiolini et al. 1997, Baggiolini 1998]. Insgesamt sind über 50 Botenstoffe und etwa 20 Rezeptoren für diese Botenstoffe festgestellt worden [Von Andrian et al. 2000, Gangur et al. 2002]. Um eine bessere Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Forschungsbereichen bei der Anzahl immer neu entdeckter Botenstoffen und Rezeptoren zu erzielen wurde auch ein neues Nomenklaturesystem für diese entwickelt [Zlotnik et al. 2000, Baggiolini 2001]. Die Tabellen 1-2 und 1-3 listen dieses System, die originalen Namen die Genloci und die Rezeptoren auf.

Tabelle 1-2: Menschliche CC Chemokine und deren Rezeptoren

Systematischer Name	Originalname	Genlocus	Rezeptor
CCL1	I-309	17q11.2	CCR8
CCL2	MCP-1	17q11.2	CCR2
CCL3	MIP-1 α , LD78	17q12	CCR1, CCR5
CCL3L1	LD78 β	17q12	CCR1, CCR5
CCL4	MIP-1 β	17q12	CCR5
CCL5	RANTES	17q12	CCR1, CCR3, CCR5
CCL7	MCP-3	17q11.2	CCR1, CCR2, CCR3
CCL8	MCP-2	17q11.2	CCR3
CCL11	Eotaxin-1	17q11.2	CCR3
CCL13	MCP-4	17q11.2	CCR2, CCR3
CCL14	HCC-1	17q12	CCR1
CCL15	HCC-2, Lkn-1, MIP-1 δ	17q12	CCR1, CCR3
CCL16	HCC-4, LEC	17q12	CCR1
CCL17	TARC	16q13	CCR4
CCL18	PARC, DC-CK1, AMAC1	17q12	Unbekannt
CCL19	ELC, MIP-3 β , exodus-3	9p13.3	CCR7
CCL20	LARC, MIP-3 α , exodus-1	2q36.3	CCR6
CCL21	SLC, 6Ckine, exodus-2	9p13.3	CCR7
CCL22	MDC, STCP-1	16q13	CCR4
CCL23	MPIF-1, CK β 8	17q12	CCR1
CCL24	Eotaxin-2, MPIF-2	7q11.23	CCR3
CCL25	TECK	9p13.3	CCR9
CCL26	Eotaxin-3	7q11.23	CCR3
CCL27	CTACK, ILC	9p13.3	CCR10
CCL28	MEC	5p12	CCR3, CCR10

Nach Baggiolini 2001

Tabelle 1-3: Menschliche CXC Chemokine und deren Rezeptoren

Systematischer Name	Originalname	Genlocus	Rezeptor
CXCL1	GRO α	4q21.1	CXCR2
CXCL2	GRO β	4q21.1	CXCR2
CXCL3	GRO γ	4q21.1	CXCR2
CXCL4	PF4	4q21.1	Unbekannt
CXCL5	ENA-78	4q21.1	CXCR2
CXCL6	GCP-2	4q21.1	CXCR1, CXCR2
CXCL7	NAP-2	4q21.1	CXCR2
CXCL8	IL-8	4q21.1	CXCR1, CXCR2
CXCL9	Mig	4q21.1	CXCR3
CXCL10	IP-10	4q21.1	CXCR3
CXCL11	I-TAC	4q21.1	CXCR3
CXCL12	SDF-1 α/β	10q11.21	CXCR4
CXCL13	BCA-1	5q31.1	CXCR5
CXCL14	BRAK	Unbekannt	Unbekannt

Nach Baggiolini 2001

Auf die Einzelheiten der Chemokine und deren Rezeptoren bezüglich die verschiedenen Zelltypen und Zielgewebe soll hier aber auf Grund der Komplexität des Themas im Einzelnen nicht weiter eingegangen werden. Stichpunktartig werden in den Unterkapiteln der Einleitung jedoch einzelne Chemokine angesprochen.

1.2.2.3 Haftung und Auswanderung

Integrine sind Transmembranmoleküle [Hynes 1992] die in Interaktionen zwischen Leukozyten und dem Endothel miteinbezogen sind, „lymphocyte function-associated antigen-1“ (LFA-1) und „very late antigen-4“ (VLA-4) finden sich besonders auf nicht stimulierten Lymphozyten. Beide sind aktivierungsabhängig und verändern dadurch ihre Konformation, wodurch die Affinität zum Liganden bei gleichbleibender Rezeptorendichte erhöht wird [Springer 1990, Berlin et al. 1993, Higgins et al. 1998].

Drei Liganden sind für LFA-1 beschrieben worden: ICAM-1, ICAM-2 and ICAM-3 (intercellular cell adhesion molecule) [Rothlein et al. 1986, Staunton 1989, de Fougères 1992]. ICAM-1 wird auf Endothel- und anderen Zellen bei Anwesenheit von inflammatorischen Zytokinen ausgebildet, während ICAM-2 im Wesentlichen auf Lymphozyten und Endothelzellen zu finden ist. ICAM-3 Expression ist beschränkt auf Zellen mit lympho-myeloischem Ursprung [Springer 1995].

„Vascular cell adhesion molecule-1“ (VCAM-1) ist der Ligand für VLA-4 [Elices et al. 1990]. Es wird durch Zytokine induziert und befindet sich auf Endothelzellen in drei unterschiedlichen Versionen [Springer 1995]. Die Interaktion von VLA-4 und VCAM-1 unterstützt nicht nur die Haftung der Zellen am Endothel, sondern auch das Rollen der Lymphozyten. Sowohl die ICAMs als auch die VCAMs gehören zur ”immunoglobulin gene superfamily” (IgSF).

Der Ligand für das „mucosal addressin cell adhesion molecule“ (MadCAM) wird auf den HEV der Peyer-Plaques und anderen Venolen exprimiert [Streeter et al. 1988]. MadCAM ist aufgrund seiner Struktur in der Lage sowohl an ein Integrin als auch an ein Selektin zu binden. Die Bindung mit L-Selektin vermittelt so das Rollen der Lymphozyten am Endothel [Berg et al. 1993].

Die molekularen Mechanismen der Leukozytentransmigration involvieren CD-31, ebenfalls Mitglied der IgSF. CD-31 wird von Leukozyten und Endothelzellen exprimiert und ist sein eigener Ligand. Es scheint das CD-31 von aktivierten Lymphozyten die CD31-CD31 Doppelbindung zwischen Endothelzellen auftrennt [Zocchi et al. 1996, Bianchi et al. 1997]. Es ist heute jedoch auch ein sogenanntes „junctional adhesion molecule“ (JAM) bekannt, welches in die Transmigration von Monozyten involviert ist [Martin-Perdura et al. 1998].

1.2.3 Weitere Bedingungen der Auswanderung

Es wird heute postuliert, dass der initiale Kontakt von Leukozyten und Endothelzellen von Microvilli hergestellt wird [van Ewijk 1975, Picker et al. 1991]. Die spezifische Verteilung von Rezeptoren in den Microvilli erlaubt eine hohe Rezeptorendichte an der Kontaktstelle bei gleichzeitiger Verminderung der elektrostatischen Abstoßung der negativ geladenen Zelloberflächen [Singer 1992, Dunon et al. 1996]. In der Tat wird L-Selektin bevorzugt auf Microvilli exprimiert, während LFA-1, welches nicht für die primäre Adhäsion benötigt wird, vermehrt auf der Zelloberfläche vorkommt [von Andrian 1995].

Die tatsächliche Affinität von Selektinen für ihre Liganden ist eher klein, aber die Rate der Kontakte ist extrem hoch [Dunon 1996, Finger et al. 1996]. Die resultierende Interaktion ist zu vorübergehend und unvollständig um eine feste Zell-zu-Zell Bindung hervorzubringen.

Feste Bindung der Leukozyten wird vor allem durch eine Unterfamilie der Integrine, der $\beta 2$ -Gruppe, vermittelt. Diese werden selektiv von lymphatischen und myeloischen Zellen exprimiert. So führt ein genetischer Defekt der $\beta 2$ -Integrin Expressierung zu einer schwersten Immunschwäche, dem „leukocyte adhesion deficiency syndrome“ (LAD). Dieses ist ein klarer Beweis für die Wichtigkeit der Rezeptorfunktion für das Gesamtfunktionieren des Immunsystems [Anderson und Springer 1987, Fischer et al. 1988]. Wie schon weiter oben angesprochen sind Integrine von zirkulierenden Zellen nicht in der Lage mit spezifischen Liganden zu reagieren, solange keine Aktivierung der exprimierenden Zellen stattgefunden hat [Springer 1990]. Der Übergang von einem Zustand niedriger zu hoher Affinität ist für die $\beta 2$ -Integrine und auch andere Mitglieder der Integrin Familie beschrieben worden [Dustin und Springer 1989]. Eine genaue Analyse der relativen Affinität von LFA-1 zu ICAM-1

hat gezeigt, dass durch Aktivierung die Affinität etwa 200-fach gesteigert wird [Lollo et al. 1994].

Verschiedene molekulare Vorgänge, deren kausale Zusammenhänge und zeitliche Abfolge bisher noch nicht vollständig verstanden sind, finden gleichzeitig zu der oben beschriebenen Umwandlung der inaktiven Leukozyten-Integrine, statt, so z.B. eine reversible Assoziation der Adhäsions-Rezeptoren mit dem Zytoskelett der Zellen [Pardi et al. 1992]. Integrine sind in der Lage mit dem Zytoskelett der Zellen zu interagieren. Definierte Bereiche assoziieren sich physikalisch zu einem oder mehreren Bestandteilen des zytoplasmatischen Netzwerkes der Zellen [Sastry und Horwitz 1993, Pardi et al. 1995]. Pharmakologische Hemmung dieser Interaktion verhindert die durch Integrine vermittelte Leukozytenadhäsion und Bewegung vollständig [Hynes 1992]. Diese durch Aktivierung herbeigeführte Assoziation von Rezeptor und Zytoskelett geht der Konformationsänderung des Rezeptors voran, oder fördert diesen Vorgang sogar. Erst nachfolgend kommt es dann zum Kontakt mit dem Liganden. Dies könnte bedeuten, dass eine räumliche Anhäufung von Rezeptoren auch zu einer zeitlichen Gleichrichtung der energieabhängigen Umwandlung der Integrine führt. Dieses würde die Konversion der Leukozyten von nicht-haftend zu haftend parallelisieren.

Bei zirkulierenden Zellen, bei denen der Adhäsions-Rezeptor normalerweise vom Zytoskelett abgekoppelt ist, wie z.B. T-Lymphozyten, konnte gezeigt werden, dass durch gleichzeitiges Ansprechen multipler Aktivierungsrezeptoren eine ausreichende Bindung eines Teiles von LFA-1 mit dem Zytoskelett, auch ohne Anwesenheit von Liganden des Adhäsionsrezeptors, erreicht werden konnte [Pardi et al. 1992]. Verschiedene Studien unterstützen die Hypothese, dass LFA-1 auf ruhenden Lymphozyten an das Zytoskelett gebunden ist. Durch Aktivierung wird das

Integrin freigesetzt und beginnt neue Verbindungen in Form von Anhäufungen zu bilden, wodurch sich die Affinität zum Liganden erhöht [Kucik et al. 1996, Stewart et al. 1998].

1.2.4 Rezirkulation junger Lymphozyten

Die Endothelzellen der HEV sind auf die Auswanderung unreifer Lymphozyten in Lymphknoten spezialisiert [Stamper und Woodruff 1976]. Spezifische molekulare Unterschiede sind für die Bindung in den HEV von Lymphknoten und Peyer-Plaques beschrieben worden, welche das Überwiegen von T-Zellen in Lymphknoten gegenüber B-Zellen in Peyer-Plaques erklären könnte [Woodruff et al. 1987].

1.2.4.1 Rezirkulation durch Lymphknoten

Die Suche nach bindungshemmenden Antikörpern zwischen jungen Lymphozyten und Lymphknoten-HEV hat zum Ergebnis gehabt, dass ein Rollen der Lymphozyten durch die Interaktion von L-Selektin sowohl mit GlyCAM-1 als auch mit CD34 vermittelt wird [Springer 1995]. Die Benutzung dieser beiden Moleküle in den HEV ist insofern bemerkenswert, als das GlyCAM-1 und CD34, so sie in anderen Geweben exprimiert werden, kein L-Selektin binden können [Lasky et al. 1992]. Dennoch finden sich L-Selektin Liganden wohl in den meisten Endothelien, was durch das L-Selektin abhängige Rollen von Neutrophilen bestätigt wird [Lewinsohn 1987]. Zudem ist die Interaktion von L-Selektin mit dem jeweiligen Liganden alleine unzureichend, um die spezifische Migration der Lymphozyten zu peripheren Lymphknoten zu erklären. Als Beweis dienen wiederum Neutrophile, die trotz hoher L-Selektin Konzentration auf der Oberfläche, nicht durch Lymphknoten rezirkulieren.

Wie oben bereits angesprochen ist GlyCAM-1 ein Protein mit einer hohen Affinität zu L-Selektin. Die Bindung von GlyCAM-1 an den Rezeptor

stimuliert die Nachfrage der unreifen Lymphozyten nach ICAM-1 [Hwang et al. 1996]. Die Rolle von CD34 ist aber weiterhin unklar. Trotz vieler Hinweise auf eine Beteiligung des Proteins am Rollen der unreifen Lymphozyten in HEV [Butcher 1991, Berg et al. 1998], zeigen Mäuse mit einem Mangel an CD34 keine Defizite in der Funktion [Suzuki et al. 1996]. L-Selektin ist aber notwendig, da Mäuse mit L-Selektin-Mangel eine deutliche Reduktion der Zirkulation zu Lymphknoten hin zeigen [Arbones et al. 1994].

Die Migration von Lymphozyten zu peripheren Lymphknoten kann fast komplett durch Gabe von LFA-1 Antikörpern blockiert werden. Dieses lässt auf die Beteiligung des Integrin am Schritt der festen Adhäsion schließen. LFA-1 muss, um an ICAM-1 oder ICAM-2 (beide werden in HEV exprimiert) binden zu können, zuvor aktiviert werden [Hynes 1992]. In einem Experiment mit gereinigten L-Selektin Liganden kommt es unter Scherkräften zwar zu einem Rollen, nicht aber zu einem Anhaften der T-Lymphozyten. Dieses ändert sich auch nicht durch Zugabe von ICAM-1 [Lawrence et al. 1995]. Auch bei der Aktivierung von LFA-1 scheint wieder ein Rezeptor mit G-Protein Anteil beteiligt zu sein, da Pertussistoxin sowohl zu einer Lymphozytose führt, als auch zuvor mit dem Gift behandelte Lymphozyten, nach Re-injektion in Versuchstiere, nicht mehr in periphere Lymphknoten oder Peyer-Plaques wandern [Morse und Barron 1970]. Die Aktivierung von LFA-1 scheint durch Chemokine ausgelöst zu werden, da auch diese an G-Protein geknüpften Rezeptoren binden [Kim 1999]. Ein Beispiel hierfür ist TCA-4, das LFA-1 aktiviert und somit zum Rollen der Lymphozyten auf dem Endothel in Lymphknoten HEV führt [Stein et al. 2000].

Oben beschrieben sind Mechanismen für den Eintritt von Lymphozyten aus dem Blut in die Lymphknoten. Ebenfalls sind Mechanismen für das

Wiederaustreten der Lymphozyten aus den Lymphknoten in die Blutstrombahn beschrieben worden. Mannose wird hier als ein Rezeptor genannt der wiederum mit L-Selektin bindet und dadurch den Austritt der Lymphozyten möglich macht [Irjala et al. 2001]. Interessant ist dabei dass dieser Vorgang nur unter statischen Bedingungen ablaufen kann und nicht unter Flussbedingungen wie es für den L-Selektin gesteuerten Eintritt der Lymphozyten gefordert ist. Ein weiterer Rezeptor ist der „common lymphatic endothelial and vascular endothelial receptor-1“ (CLEVER-1) der ebenfalls auf beiden Seiten des Lymphozyten Ein- und Austritts eine Rolle zu spielen scheint [Irjala et al. 2003, Irjala et al. 2003].

1.2.4.2 Rezirkulation durch Peyer-Plaques

Das Rollen der Lymphozyten in Peyer-Plaques wird ausgelöst durch die Interaktion von L-Selektin und MadCAM-1, wird jedoch durch Bindung des gleichen Rezeptors an das Integrin $\alpha 4\beta 7$ unterstützt. Dieses Integrin reduziert die Rollgeschwindigkeit deutlich und wird für die durch LFA-1 vermittelte Adhäsion benötigt [Bargatze et al. 1995]. Sowohl für LFA-1 als auch für $\alpha 4\beta 7$ ist wohl wieder ein G-Protein beteiligt: mit Pertussistoxin vorbehandelte Lymphozyten Rollen ohne jedoch anzuhalten, wie durch in vivo Mikroskopie von Peyer-Plaques gezeigt werden konnte [Bargatze und Butcher 1993]. Wie auch schon oben beim Homing durch Lymphknoten sind auch bei den Peyer-Plaques bei der Aktivierung von LFA-1 Chemokine notwendig und auch hier konnte gezeigt werden dass TCA-4 an dem Vorgang unter anderem beteiligt ist [Warnock et al. 2000].

1.2.5 Homing von Gedächtniszellen

Gedächtniszellen rezirkulieren bevorzugt hin zu den Geweben, in denen sie ihren ersten Antigen-Kontakt hatten, d.h. Haut oder Mucosa [Mackay

1992]. Dieses spezifische Homing-Muster wird durch eine differenzierte Exprimierung von Adhäsions-Rezeptoren erreicht (Abb. 1-4).

1.2.5.1 Rezirkulation in die Haut

Lymphozyten, die hauptsächlich in die Haut rezirkulieren, exprimieren das „cutaneous lymphocyte-associated antigen“ (CLA) [Butcher et al. 1999, Ohlsen et al. 2002]. CLA, dessen Ligand E-Selektin ist, wird erst nach Umwandlung eines unreifen Lymphozyten in eine Gedächtniszelle unter Anwesenheit von IL-12 und TGF- β („transforming growth factor- β “) exprimiert [Picker et al. 1993]. Im Mäusemodell konnte gezeigt werden, dass Rezirkulation in die Haut auch durch P-Selektin erreicht werden kann, wenn T-Zellen eine spezielle Form von PSGL-1 exprimieren [Borges et al. 1997, Nolte et al. 1994]. Immer mehr Hinweise deuten darauf hin, dass bei Mäusen die Rekrutierung von T-Zellen in Regionen verspäteter Immunreaktionen spezifisch für Gedächtniszellen vom T-Helfer-1 (TH1) Typ ist [Austrup et al. 1997]. Ebenfalls konnte ein Chemokin dargestellt werden, „cutaneous T cell-attracting chemokine“ (CTACK), das spezifisch die CLA positiven Gedächtniszellen „anlockt“ [Morales et al. 1999] und scheinbar auch bei verschiedenen Erkrankungen maßgeblich beteiligt ist [Kakinuma 2003].

1.2.5.2 Rezirkulation in den Darm

Im Darm sind Lymphozyten in der Lamina Propria und in den Peyer-Plaques angesiedelt. Anders als unreife Lymphozyten, exprimieren die meisten Gedächtniszellen kein L-Selektin. Ihre Fähigkeit in die Lamina Propria und die Peyer-Plaques zu rezirkulieren erwerben sie durch die Interaktion von Integrin $\alpha 4\beta 7$ und MadCAM. Diese Verbindung vermittelt das Rollen und die Adhäsion, wie in situ Mikroskopie unter Hinzunahme

von blockierenden Antikörpern zeigen konnte [Bargatze et al. 1995, Tsuzuki et al. 1996].

Eine Untergruppe der Darm-Lymphozyten, die „intraepithelial lymphocytes“ (IEL), ist im Epithelium der äußeren Schicht der Basalmembran lokalisiert. Mehr als 95% der IEL exprimieren das spezifische Mukosa-Integrin $\alpha E\beta 7$ [Cerf-Bensussan et al. 1987], das für das Homing der Lymphozyten in das Epithel verantwortlich ist [Cepek et al. 1993, Ohlson et al. 2002]. Der Ligand hierfür ist E-Cadherin; durch Antikörper gegen E-Cadherin konnte spezifisch das Homing von IEL unterbunden werden [Cepek et al. 1993, Cepek et al. 1994, Higgins et al. 1998]. Weitere Chemokine wie LARC [Tanaka et al. 1999] und TECK [Kunkel et al. 2000] scheinen ebenfalls eine Rolle bei der Feinverteilung der T-Lymphozyten im Darm zu spielen [Ohlsen et al. 2002].

1.2.5.3 Rezirkulation in Entzündungsgewebe

Die Zirkulation von Lymphozyten bei Vorhandensein einer Entzündung wird durch die gleichen Mechanismen gesteuert wie die oben beschriebene normale physiologische Zirkulation, jedoch mit stärkerer Intensität. Ebenso scheint es in der Natur bei Bakterien und Viren Vorrichtungen zu geben die diese Rezirkulation und damit Anlockung verhindern [Chavakis et al. 2002]. Das Rollen der Lymphozyten auf aktiviertem Endothel kommt durch Kooperation zwischen Selektin ähnlichen Liganden und VLA-4/VCAM-1 zustande [Issekutz 1993].

Entzündung induziert zudem die direkte Auswanderung von Gedächtniszellen aus der Gefäßstrombahn in die Lymphknoten, ebenfalls durch Interaktion von VLA-4 und VCAM-1 [Alon et al. 1995]. Verschiedene chemische Botenstoffe die von Entzündungsgeweben sezerniert werden, wie z.B. MCP-1, RANTES und MIP-1 α und MIP-1 β ,

locken selektiv T-Lymphozyten an [Pitzalis et al. 1991, Baggiolini et al. 1997]; interessanterweise wird die Ausstoßung dieser Botenstoffe durch IFN- γ induziert, ein spezifisches Zytokin für TH1-Zellen. Zudem kann in Entzündungsgeweben der „hepatocyte growth factor“ (HGF) festgestellt werden, der scheinbar ebenfalls spezifisch T-Lymphozyten anzieht [Adams et al. 1994]. Diese Spezifität von Chemokinen und deren Rezeptoren scheint beim Entzündungsvorgang dafür zu sorgen, dass bestimmte Zellen bevorzugt zu den entzündeten Strukturen wandern. Viele Untersuchungen über die verschiedenen chemischen Botenstoffe und Rezeptoren liegen bei unterschiedlichen Organsystemen vor [Campbell et al. 2002, Doerschuck et al. 2000, Heydtmann 2002, Ohlsen et al. 2002, Saetta et al. 2002]. Auf die einzelnen Ergebnisse der Studien soll hier aber nicht weiter eingegangen werden.

Angesprochen werden aber soll noch, dass es auch abweichende Meinungen von den Homing-Theorien und deren Auswirkung auf pathologische Vorgänge und mögliche Therapien gibt. Die oben angeführten verschiedenen Mechanismen des Leukozyten-Homing scheinen zwar in genereller Form vorzuliegen [Butcher et al. 1996], jedoch gibt es wie schon angemerkt auch organspezifische Kombinationen von Chemokinen, Adhäsionsmolekülen und Rezeptoren [Campbell et al. 2000, Drilenburg et al. 2000]. Schon vorher war diese klare und spezifische Anlockung verschiedener T-Lymphozyten zu bestimmten Organen postuliert worden [Springer 1994].

Dieses führte zusammen zu der Theorie, dass die Organspezifität verschiedener T-Zellen bei der Auslösung bestimmter Erkrankungen eine maßgebliche Rolle spielt. Entsprechend wurde versucht, neue Therapeutika zu entwickeln, die das Homing durch Unterbrechung der Kette auf Adhäsionsmolekül- oder Chemokinebene unterbinden [Proudfoot et al. 2000, Rutgeerts et al. 2003].

Eben eine andere Position beziehen hier Westerman et al. [Westerman et al. 2001, Westermann et al. 2003] in Bezug auf Untergruppen von T-Lymphozyten. Weniger Homing soll für die zielgerichtete Anhäufung von Zellen eine Rolle spielen sondern eher Vorgänge wie verstärkte Proliferation, verminderter Zelltod und verlängerter Aufenthalt in den entsprechenden Zielgeweben.

1.3 Endokrinologische Auslöser

Auch neuere Untersuchungen beschäftigen sich weiterhin mit der Verknüpfung von Immunsystem und Schwankungen im endokrinen Bereich. So konnte gezeigt werden, das Cortisol scheinbar zu einem großen Teil an den Umverteilungsvorgängen beteiligt ist [Toft et al. 1992, 1995]. In diesen Studien wurde bei Tieren sowohl durch Cortisolinfusionen als auch durch Erhöhung des Cortisolspiegels durch chirurgischen Eingriff eine Lymphozytopenie und Umverteilung der Lymphozyten-Subpopulation ausgelöst. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen Studien mit gesunden Probanden zur Suche nach Zusammenhängen zwischen Hormonen und dem Immunsystem [Kronfol et al. 1997].

An Tieren konnte ebenfalls ein Zusammenhang zwischen Cortisol und Lymphozyten hergestellt werden. Eine in vivo Korrelation von Cortisol und Adhäsionsmolekülen konnte in verschiedenen Studien festgestellt werden [Bauer et al. 2002, Heinz et al. 2003], wurde jedoch in vitro nicht bestätigt [Mori et al. 2000]. Andere Untersuchungen konnten ein deutliches Ansteigen von verschiedenen Zytokinen unter Stressbedingungen zeigen, wodurch die Umverteilung der Leukozyten erklärt werden könnte. In manchen dieser Studien korreliert die Veränderung der Zytokine mit denen des Cortisol [Palm et al. 1996].

Manches deutet darauf hin, das besonders Katecholamine an den Umverteilungsmechanismen beteiligt sind [Suzuki et al. 1997]. Diese Ergebnisse konnten aber in Tierversuchen auch nur zum Teil bestätigt werden, da hier auch nach Supprimierung von Katecholaminen weiterhin Rhythmen bei T-Lymphozyten fortbestanden [Depres-Brummer et al 1997]. Leukozyten steigen nach kurzzeitigem körperlichem Einsatz zusammen mit den Katecholaminen an, nicht jedoch die Lymphozyten [Weicker und Werle 1991].

1.4 Ziel der Arbeit

Durch vorangegangene Untersuchungen der circadianen Rhythmen von Cortisol und den verschiedenen weißen Zellen des Blutes war wie oben angeführt ein steuernder Einfluss des Cortisol auf diese Zellen vermutet worden. Messungen nach exogener Gabe von Glucocorticoiden bestätigten diesen Einfluss in verschiedenen Studien.

Ziel dieser Arbeit war es daher durch definierte Anhebungen der endogenen Cortisolspiegel die direkte Wirkung auf die immunkompetenten Zellen des Blutes näher zu untersuchen.

Zu diesem Zweck wurde der Tagesgang über vierundzwanzig Stunden bei gesunden Probanden bestimmt. Danach wurden zwei weitere Gruppen gebildet; die eine mit ACTH Stimulierung zum physiologischen Zenith des Cortisol morgens; die andere mit ACTH Stimulierung abends im Nadir der Cortisolsekretion.

Die jeweiligen Reaktionen der verschiedenen Zellen der beiden stimulierten Gruppen sollten im Vergleich zum spontanen Tagesgang näheren Aufschluss über den steuernden Einfluss des endogenen Cortisol auf die verschiedenen Populationen immunkompetenter Zellen des Blutes liefern.

2 Methodik

Folgende Parameter wurden bei den Probanden überprüft: Cortisol, Lymphozyten, Granulozyten, Monozyten, T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Helfer-Zellen, Suppressor-Zellen, aktivierte T-Zellen, natürliche Killer-Zellen.

2.1 Untersuchungsmethoden

2.1.1 Untersuchte Probanden und Gruppenaufteilung

Insgesamt wurden 30 Probanden untersucht, alle Probanden waren gesund und nahmen keinerlei Medikamente. Sie rekrutierten sich aus dem persönlichen Umfeld des Untersuchers. Das Alter der Probanden lag zwischen 20 und 30 Jahren, im Mittel bei 25,9 Jahren. Es wurden jeweils 15 Frauen und 15 Männer untersucht. Die Probanden verteilten sich auf drei Gruppen, die einem unterschiedlichen Versuchsprotokoll unterzogen wurden. Die Aufteilung der Probanden war vom Alter und Geschlecht her gleichmäßig, wenn auch die Gruppengröße unterschiedlich war.

Tabelle 2-1: Geschlecht- und Altersverteilung Gruppe 1 / 24h-Gruppe

Nummer	Geschlecht	Alter	Nummer	Geschlecht	Alter
1	w	23	8	m	30
2	w	26	9	w	24
3	m	29	10	w	22
4	m	29	11	m	29
5	w	22	12	m	27
6	m	28	13	w	23
7	m	28	14	w	22

Altersmittel: 25,9 Jahre

Tabelle 2-2: Geschlecht- und Altersverteilung Gruppe 2 / Tag-Gruppe

Nummer	Geschlecht	Alter
1	W	28
2	M	27
3	M	24
4	M	29
5	W	24
6	W	26
7	W	23

Altersmittel: 25,9 Jahre

Tabelle 2-3: Geschlecht- und Altersverteilung Gruppe 3 / Nacht-Gruppe

Nummer	Geschlecht	Alter
1	M	27
2	W	28
3	W	20
4	M	27
5	M	29
6	M	30
7	W	27
8	W	22
9	M	24

Altersmittel: 26 Jahre

2.1.2 Untersuchungsablauf

Alle Untersuchungen wurden in der Kerckhoff Klinik, Abteilung für Rheumatologie, in Bad Nauheim durchgeführt. Die Probanden hielten sich während der ganzen Zeit im Untersuchungsraum auf ohne körperlichen Aktivitäten nachzugehen, nur die Mahlzeiten wurden in einem anderen Raum eingenommen.

Der Ablauf in den drei Gruppen war unterschiedlich. Gruppe 1 wurde einer 24-stündigen Untersuchung ohne ACTH-Stimulation unterzogen (24h-Gruppe). Die Probanden der Gruppe 2 und 3 wurden jeweils mit ACTH

stimuliert, wobei die Gruppe 2 tagsüber (Tag-Gruppe) und die Gruppe 3 über Nacht (Nacht-Gruppe) untersucht wurde.

Die ACTH-Stimulierung mit 0,25 mg Synacthen erfolgte direkt nach der ersten Blutentnahme über den gelegten peripheren venösen Zugang, welcher zur weiteren Blutabnahme während des ganzen Untersuchungsverlaufes gelegt blieb.

Die Blutparameter wurden halbstündig, stündlich und zweistündlich abgenommen, je nach Gruppe wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich ist. In der 24-Stunden-Gruppe wurden Entnahmen in zweistündigem Abstand durchgeführt aufgrund der bekannten Plasmahalbwertszeit des Cortisol von etwa 90 Minuten. In den mit ACTH stimulierten Gruppen wurden die Abstände kürzer gewählt um den Verlauf der Werte nach Stimulierung besser beurteilen zu können. In der Nacht-Gruppe konnten jedoch die halbstündigen Messungen der Tag-Gruppe nicht durchgeführt werden um einen zu starken Einfluss durch gestörten Schlaf zu vermeiden und auch in der zweiten Nachthälfte wurden die Messungen aus dem gleichen Grunde auf alle zwei Stunden beschränkt.

Die erste Blutentnahme erfolgte bei Gruppe 1 und 2 um 8.00 Uhr, bei Gruppe 3 um 20.00 Uhr.

Tabelle 2-4: Zeitliche Verteilung der Blutentnahmen zur Bestimmung von Cortisol und allen Zelltypen

24 h-Gruppe		Tag-Gruppe		Nacht-Gruppe	
Zeitpunkt	Messung	Zeitpunkt	Messung	Zeitpunkt	Messung
8.00	Zellen + Cortisol	8.00	Zellen + Cortisol	20.00	Zellen + Cortisol
10.00	Zellen + Cortisol	9.00	Zellen + Cortisol	21.00	Zellen + Cortisol
12.00	Zellen + Cortisol	10.00	Zellen + Cortisol	22.00	Zellen + Cortisol
14.00	Zellen + Cortisol	11.00	Zellen + Cortisol	23.00	Zellen + Cortisol
16.00	Zellen + Cortisol	11.30	Zellen + Cortisol	24.00	Zellen + Cortisol
18.00	Zellen + Cortisol	12.00	Zellen + Cortisol	1.00	Zellen + Cortisol
20.00	Zellen + Cortisol	12.30	Zellen + Cortisol	2.00	Zellen + Cortisol
22.00	Zellen + Cortisol	13.00	Zellen + Cortisol	4.00	Zellen + Cortisol
24.00	Zellen + Cortisol	13.30	Zellen + Cortisol	6.00	Zellen + Cortisol
2.00	Zellen + Cortisol	14.00	Zellen + Cortisol		
4.00	Zellen + Cortisol	15.00	Zellen + Cortisol		
6.00	Zellen + Cortisol	16.00	Zellen + Cortisol		
8.00	Zellen + Cortisol				

2.1.3 Labormethoden

Sofort nach Blutentnahme folgte die Aufarbeitung des Blutausriches für das Differentialblutbild und das Abzentrifugieren des Serums.

Blutbilder und Differentialblutbilder wurden tagsüber, während der Versuch lief, bzw. morgens nach den Nachtmessungen angefertigt, ebenso die Durchführung der Cortisolbestimmung.

Die konventionellen Blutbilder wurden mit einem automatischen Blutzellzählgerät, die Differentialblutbilder visuell angefertigt. Beides wurde von erfahrenen MTA der Abteilung für Rheumatologie durchgeführt. Ebenso die Cortisolbestimmung mittels Radioimmunoassay.

Die Aufarbeitung der Proben für die Zellbestimmung erfolgte regelmäßig alle 4 Stunden, wobei die Messung am nächsten Morgen bei der Gruppe 2

und direkt morgens bei Gruppe 1 und 3 erfolgte. Beides wurde vom Versuchsleiter durchgeführt.

Die Bestimmung der einzelnen Zelltypen erfolgte mittels Markierung durch immunofluoreszenz-markierte Antikörper und nachfolgende Messung mit dem FACScanTM der Firma Becton-Dickinson (Heidelberg). Hierzu wurde die direkte Zweifarbenfluoreszenz im lysierten Vollblut angewendet [Kleine et al. 1994, Raffael et al. 1994].

Im verwendeten SimultestTM IMK Plus-Kit (Becton-Dickinson) befinden sich Antikörper gegen folgende Oberflächenantigene [Becton-Dickinson, SimultestTM IMK Plus, Katalog. Nr. 349217]:

- CD3 / CD19 (FITC markierte CD3, Klon SK3, zur Erkennung von T-Lymphozyten und PE markierte CD19, Klon 4G7, zur Erkennung von B-Lymphozyten)
- CD4 / CD8 (FITC markierte CD4, Klon SK7, zur Erkennung von T-Helfer-Zellen und PE markierte CD8, Klon SK1, zur Erkennung von T-Suppressor-Zellen)
- CD3 / Anti-HLA-DR (FITC markierte CD3, Klon SK7, zur Erkennung von T-Zellen und PE markierte Anti-HLA-DR, Klon L243, zur Erkennung von aktivierten T-Zellen)
- CD3 / CD16 + CD56 (FITC markierte CD3, Klon SK7, zur Erkennung von T-Helfer-Zellen; PE markierte CD16, Klon B73.1 und PE markierte CD56, Klon MY31, zur Erkennung von NK-Zellen)

Die Proben zur Zellbestimmung wurden folgendermaßen verarbeitet:

- Vorgabe von jeweils 20 µl Antikörperlösung aus dem Testkitt in ein Probenröhrchen und Zugabe von 100 µl gut durchmischten Vollblut in jeden Testansatz
- Zum Färben der Lymphozyten 15 Minuten Inkubation im Dunkeln bei Zimmertemperatur
- Lyse der Erythrozyten durch Zugabe von 2 ml 1:10 verdünnter Lyse-Lösung (FACS[®]-Lysing-Solution, Becton-Dickinson)
- 10 Minuten Inkubation im Dunkeln, zentrifugieren für 5 Minuten bei 300g
- Abpipettieren des Überstandes und Waschen der Zellen mit 2 ml Cell-WASH[™] (Becton-Dickinson)
- Zentrifugieren für 5 Minuten bei 200 g
- Abpipettieren des Überstandes und waschen mit 0,5 ml Cell-WASH[™]
- Messen der gefärbten Zellen mit dem FACScan[™] und Auswertung mit der SimulSET[™]-Software (Becton-Dickinson).

2.2 Darstellung und Auswertung der Ergebnisse

2.2.1 Cosinor-Methode

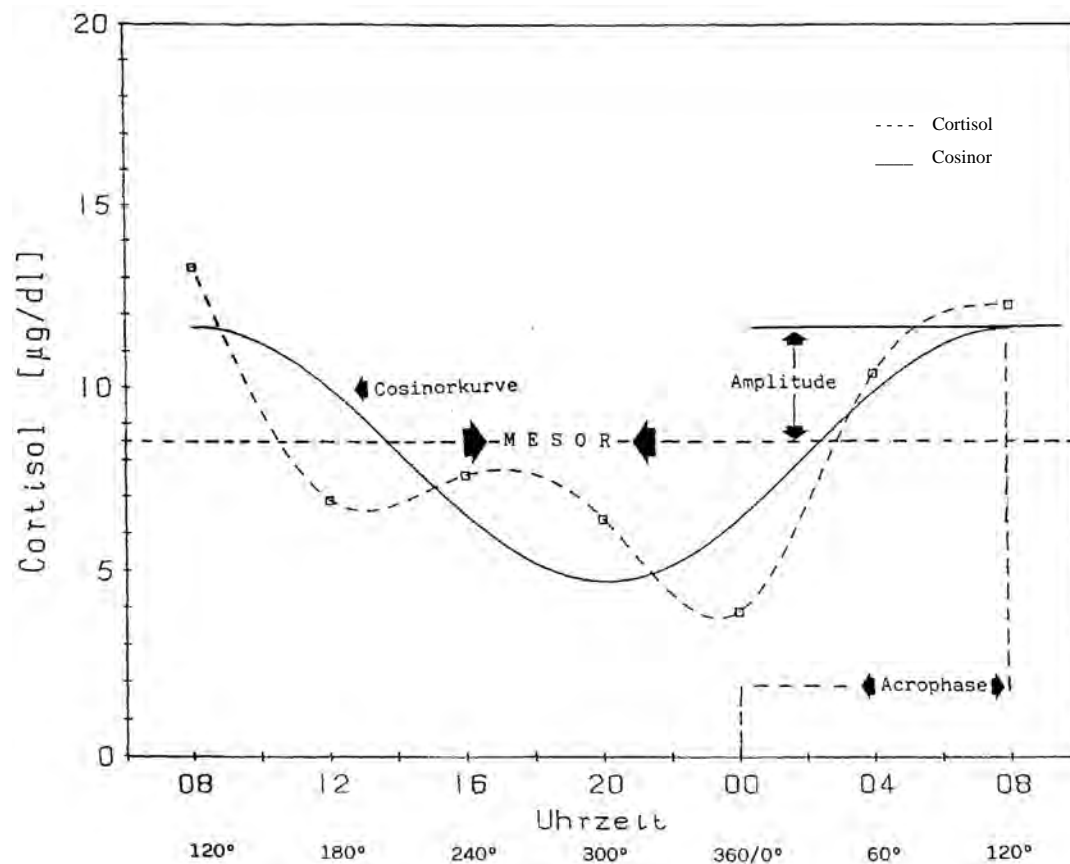
Zur Abklärung der Rhythmik einer physiologischen Größe gibt es verschiedene von der Biomedizin entwickelte Verfahren. Die hier angewendete Cosinor-Methode [Halberg 1980] basiert auf dem statistischen Verfahren der Kurvenanpassung mit Hilfe der Gausschen kleinsten Fehlerquadrate.

An eine vorgegebene regelmäßige Datenabfolge wird eine Cosinuskurve mit diesem Verfahren angepasst. Hierdurch könne circadiane oder andere regelmäßige Rhythmen quantifiziert werden.

Definiert wird die angepasste Cosinuskurve durch Akrophase, Mesor und Amplitude (Abb. 2-1). Die Akrophase ist die Lage des höchsten Wertes der angepassten Kurve, die meist mit dem höchsten Wert der gemessenen Parameter übereinstimmt. Der Mesor ist das arithmetische Mittel der gemessenen Werte. Die Amplitude ist die Differenz aus Akrophasenwert und Mesor und entspricht somit der Stärke der Ausprägung der Rhythmik.

Es wurden zur Berechnung und grafischen Darstellung hierbei die Medianwerte der Daten verwendet, da diese unempfindlicher gegen Ausreißer bei kleinen Gruppen sind.

Abbildung 2-1: Darstellung der Cosinor-Methode



Aus den gewonnenen Daten wird eine Cosinuskurve berechnet. Das Schema der verwandten Parameter Akrophase, Mesor und Amplitude ist dargestellt (nach Halberg 1980).

2.2.2 Statistische Verfahren

Zur statistischen Auswertung wurde das Programm SPSS 6.0 für Windows verwendet.

Die Beziehung zwischen der 24-Stunden-Gruppe und der Tage-Gruppe und der 24-Stunden-Gruppe und der Nacht-Gruppe wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Hierzu wurden die Anfangszeitpunkte der jeweiligen Messreihe, also 8.00 bzw. 20.00 Uhr, als 100% definiert und der Verlauf entsprechend als prozentual höhere oder niedrigere Werte. Das gleiche Verfahren wurde für den Vergleich zwischen Cortisol und den einzelnen Zelltypen herangezogen.

3 Ergebnisse

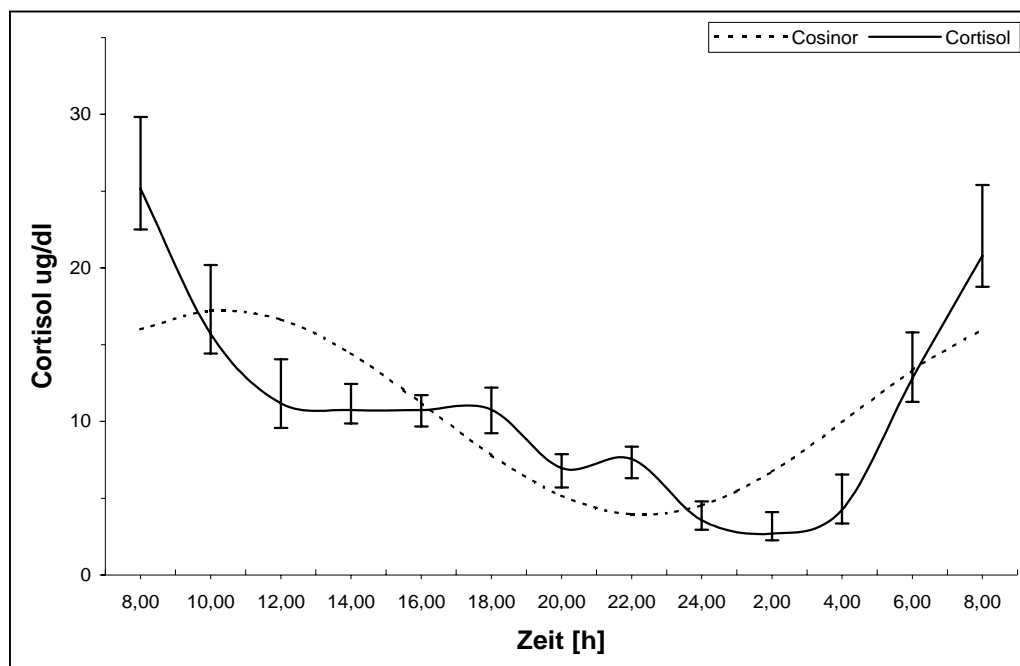
Im Ergebnisteil der Arbeit werden zur besseren Anschaulichkeit zu jeder Zellart und Gruppe verschiedene Grafiken gezeigt. Zum einen wird jeweils eine Graphik zur Darstellung des Verlaufes der jeweiligen Zellart über die Zeit dargestellt. Bei der 24-Stunden-Gruppe wird dieses mit einer Cosinorkurve verbunden. Zusätzlich werden zum Vergleich der Parameter zwischen den einzelnen Gruppen und zum Vergleich der verschiedenen Zelltypen mit Cortisol Graphiken dargestellt bei denen der jeweilige erste Wert der Messreihe als 100% gewählt wird um den Kurvenverlauf besser vergleichen zu können. Die angeführte Statistik untermauert hierbei die optische Darstellung wo signifikante Werte erreicht wurden. Drittens wird bei der 24-Stunden-Gruppe wiederum die Cosinor-Methode angewandt um die verschiedene Rhythmik der Zellen zum Cortisol besser darzustellen. Bei allen Kurven werden die Medianwerte der jeweiligen Gruppe dargestellt. Die Streuungsbalken geben die Maxima und Minima zum jeweiligen Zeitpunkt an, wobei die Daten getrimmt wurden (oberer und unterer Extremwert abgeschnitten).

3.1 Cortisol

3.1.1 24h-Gruppe

Morgens um 8 Uhr sind in der 24h-Gruppe die höchsten Cortisolspiegel vorhanden, diese fallen dann am Vormittag sehr schnell ab. Nach weiterem stufenartigem Abfall zur Nacht erreichen sie ihr Minimum gegen 2 Uhr, um dann zum nächsten Morgen wieder steil anzusteigen. Die Cosinorkurve zeigt eine entsprechend deutliche Rhythmik.

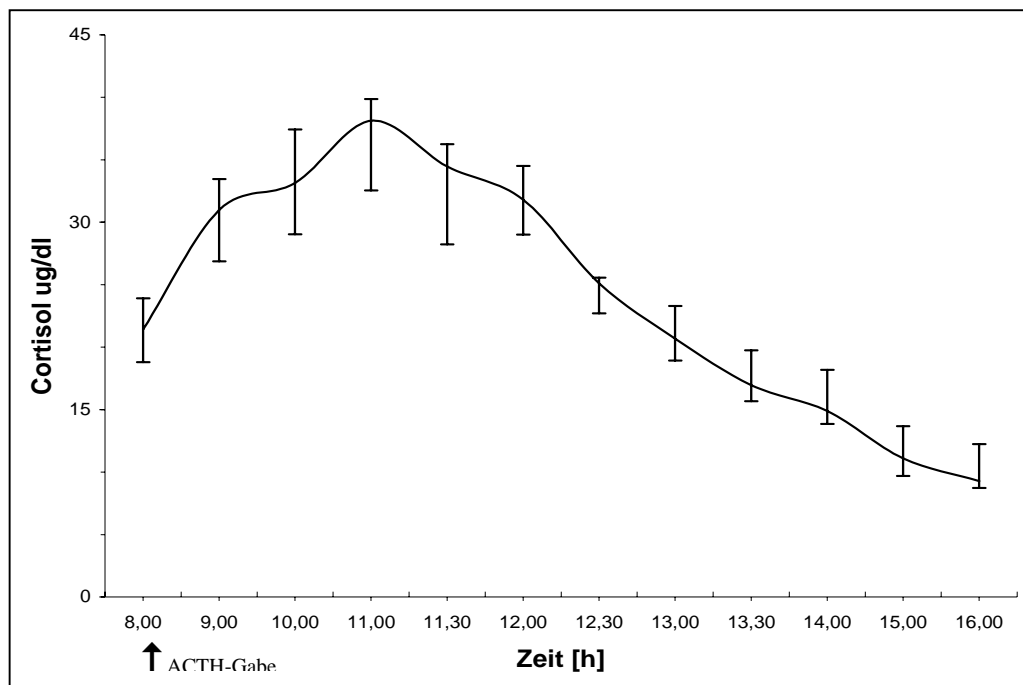
Abbildung 3-1: Cortisol- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe



3.1.2 Tag-Gruppe

In der Tag-Gruppe kommt es nach der ACTH-Gabe zu einem deutlichen Anstieg auf etwa das Doppelte des 8.00 Uhr Wertes, der Maximalwert wird um 11.00 Uhr erreicht, wobei der Anstieg in der ersten Stunde am ausgeprägtesten ist. Danach kommt es zu einem recht gleichmäßigen Abfall bis auf unter 50% des Ausgangswertes um 16.00 Uhr.

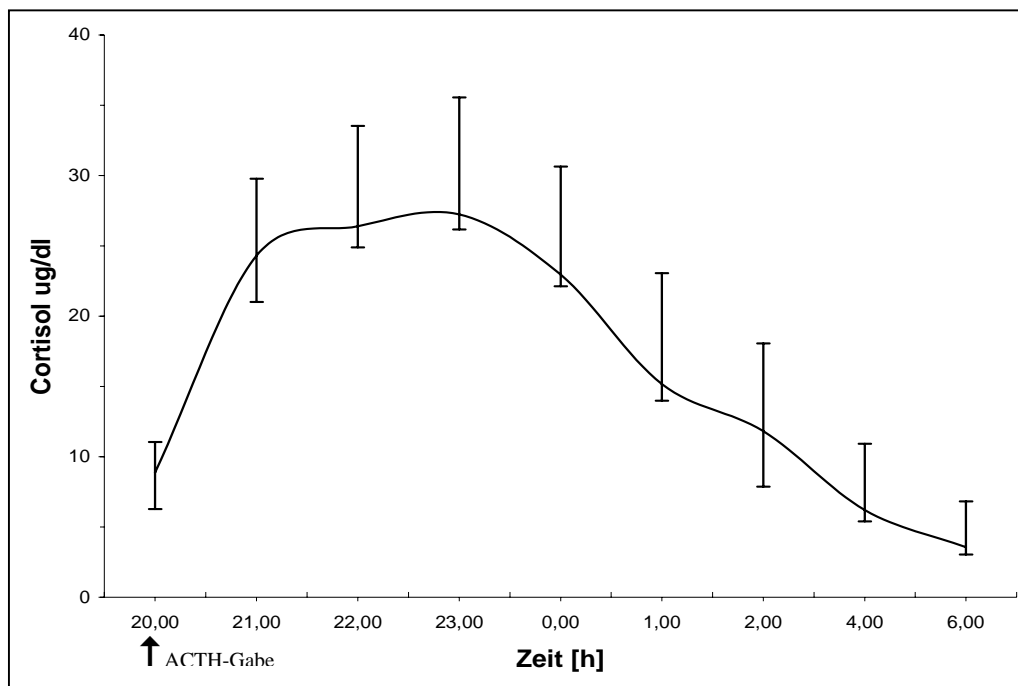
Abbildung 3-2: Cortisolkurve der Tag-Gruppe



3.1.3 Nacht-Gruppe

In der Nacht-Gruppe ist der Verlauf ähnlich wie in der Tag-Gruppe. Es kommt nach der ACTH-Gabe zu einem noch deutlicheren Anstieg des Cortisol, mit einer fast Verdreifachung der Werte nach der ersten Stunde. Nach nur noch wenig Anstieg über die folgenden zwei Stunden kommt es dann zum kontinuierlichen Abfall der Werte bis auf weniger als die Hälfte des Ausgangswertes.

Abbildung 3-3: Cortisolkurve der Nacht-Gruppe

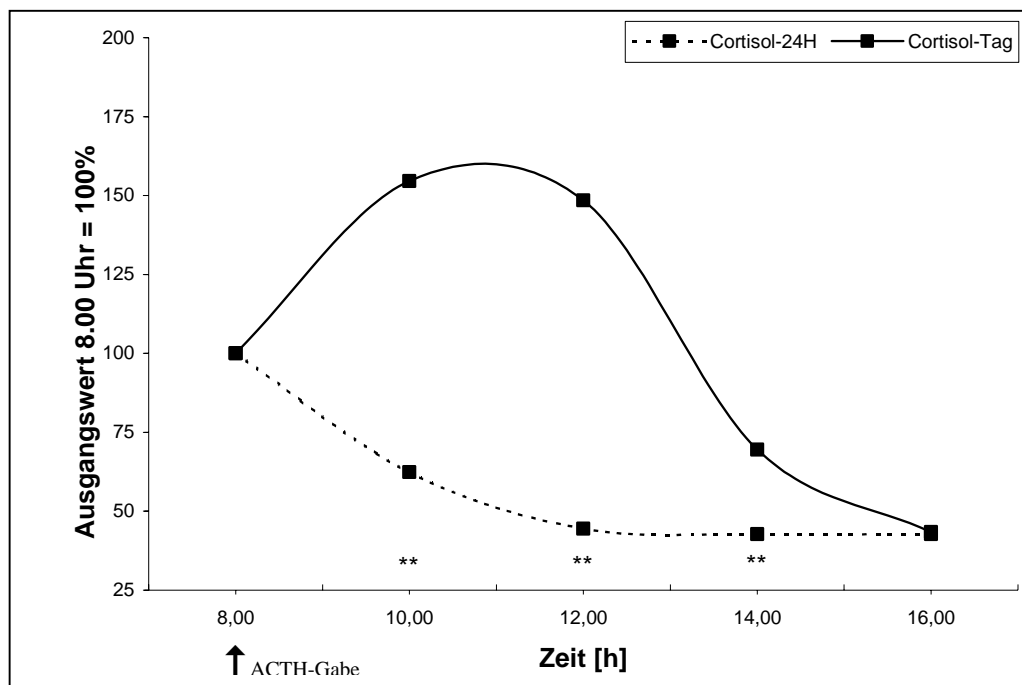


3.1.4 Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe

In der Gegenüberstellung der Gruppen mit ACTH-Gabe zu der 24h-Gruppe fällt der deutliche Cortisol Anstieg auf.

Bei der Tag-Gruppe ist ein starker Anstieg vom Ausgangswert zu verzeichnen, während die Werte der nichtstimulierten Gruppe am Anfang deutlich, im weiteren Tagesverlauf langsamer aber kontinuierlich im Vergleich zum Ausgangswert abfallen. Nach dem starken Auseinanderdriften am Anfang nähern sich die Werte zum Nachmittag wieder an, bis Sie beim Abschlusswert wieder zusammenliegen. Der Einzelwertvergleich mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergibt signifikante Werte nach ACTH-Gabe bei den drei mittleren Werten.

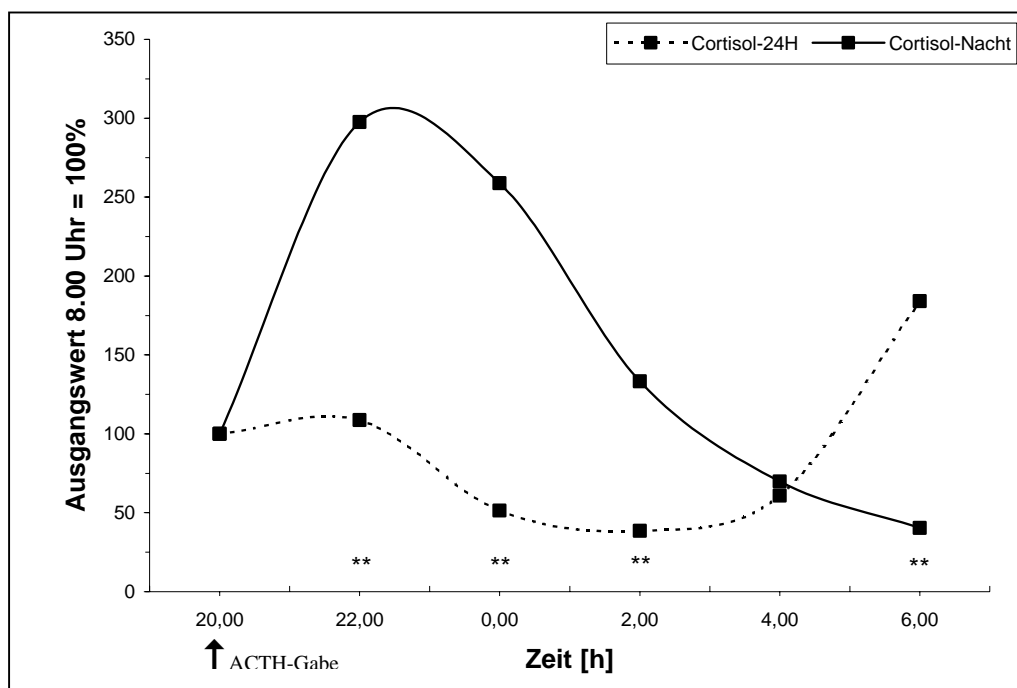
Abbildung 3-4: Vergleich der Cortisolwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.1.5 Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe

Zuerst zeigt sich ein ähnliches Bild wie das eben beschriebene bei der Tag-Gruppe, wobei der Anstieg der Nacht-Gruppe deutlicher ausfällt und die 24-Stunden Gruppe nicht einen kontinuierlichen Abfall, sondern einen schwankenden Verlauf mit Anstieg zum Morgen aufweist. Dieser Anstieg tritt bei der stimulierten Gruppe nicht auf. So zeigt auch beim Mann-Whitney-U-Test der 6.00 Uhr Wert, wie auch die übrigen Werte während des Verlaufes mit Ausnahme des 4.00 Uhr Wertes, einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen auf.

Abbildung 3-5: Vergleich der Cortisolwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%

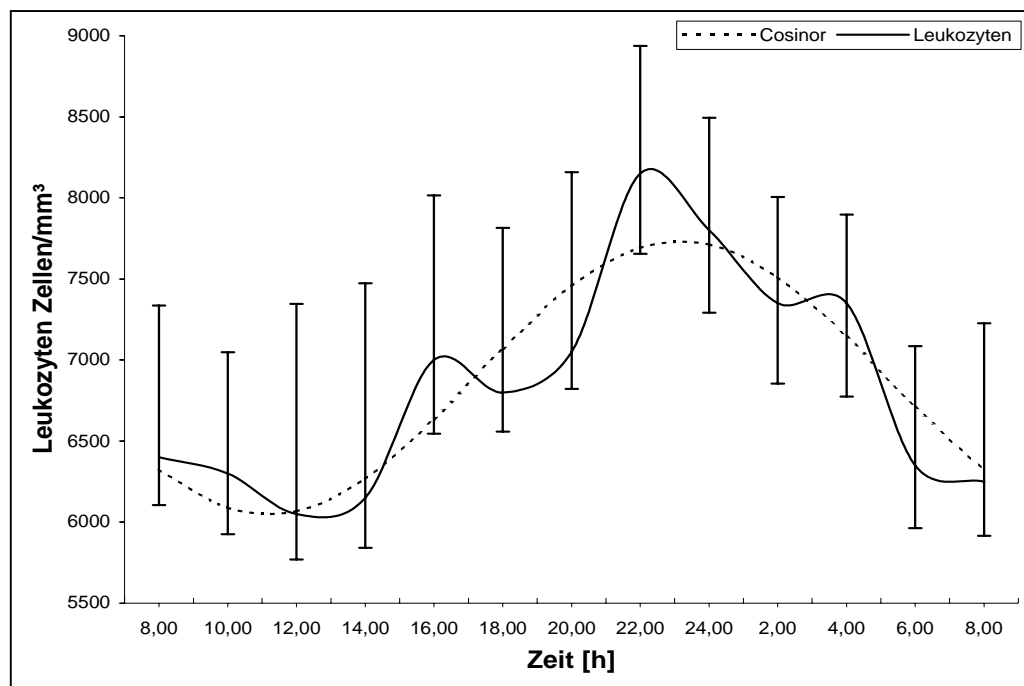


3.2 Leukozyten

3.2.1 24h-Gruppe

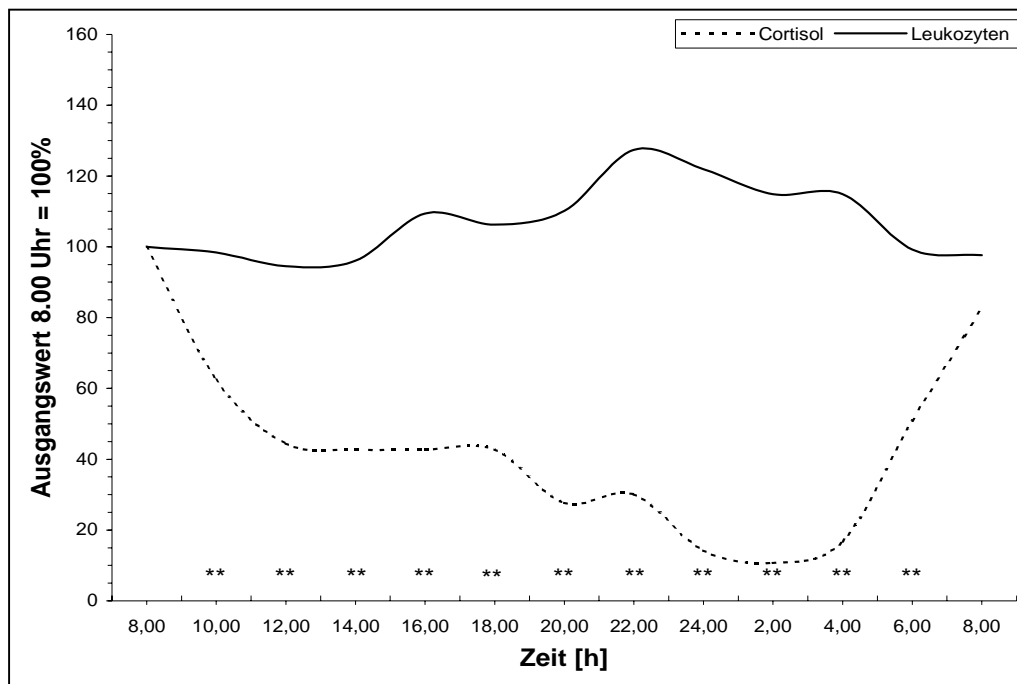
In den ersten vier Stunden kommt es bei den Leukozyten zu einem leichten Abfall, danach jedoch zu einem Anstieg bis zum Maximum gegen 22.00 Uhr und anschließendem Abfall zum Morgen. Der Tagesverlauf ist nicht kontinuierlich sondernder Schwankungen unterworfen die nach jeweils ca. 6 Stunden zu einem lokalen Maximum bzw. Minimum führen. Die Cosinorkurve zeigt eine entsprechende Rhythmik mit Minimum am Morgen und Maximum in den Abendstunden.

Abbildung 3-6: Leukozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe



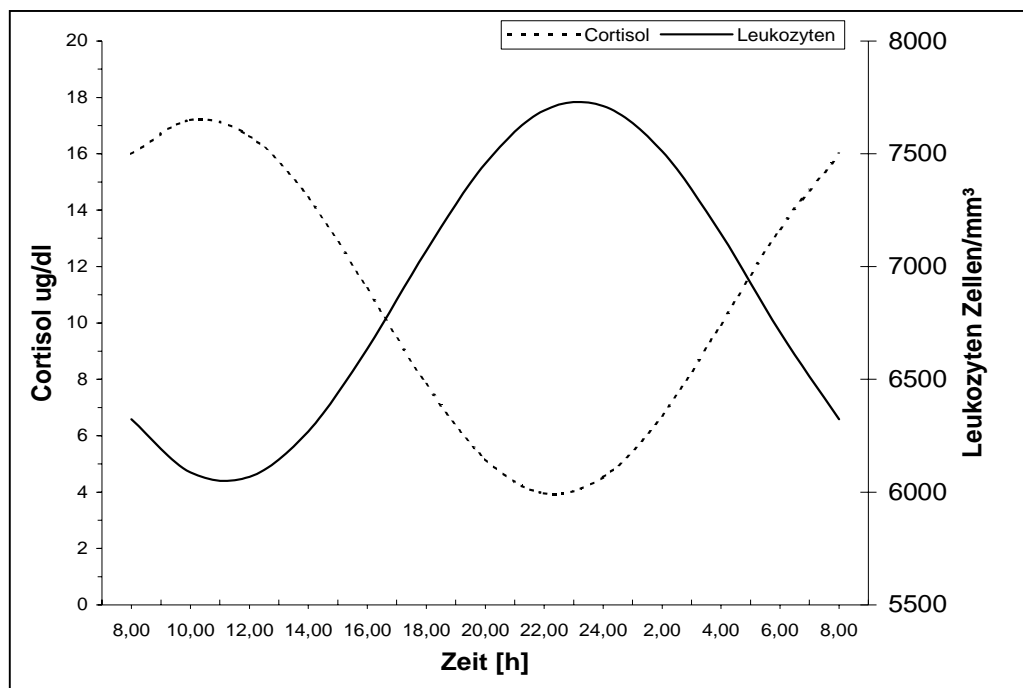
Der Vergleich der Leukozytenkurve mit der Cortisolkurve zeigt eine praktisch gegensätzlich laufende Rhythmik, wenn auch deutlich geringer ausgeprägt. Während die Cortisolwerte vom Morgen zur Nacht hin abfallen um dann wieder zu steigen ist dies bei den Leukozyten konträr, nur der geringe und kurzzeitige Abfall der Leukozyten am Morgen ist gleichgerichtet mit dem Verlauf des Cortisol. Auch die einzelnen Werte zeigen deutliche Signifikanzen während es gesamten Verlaufes ausser an den Stellen, an denen sich die Kurven sehr nahe sind.

Abbildung 3-7: Vergleich der Cortisol- und Leukozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%



Der direkte Vergleich der Cosinorkurven beider Parameter zeigt diese Gegenläufigkeit noch besser. Minima und Maxima der beiden Kurven liegen fast genau entgegengesetzt, wobei die Leukozyten etwa eine Stunde zum Cortisol versetzt sind.

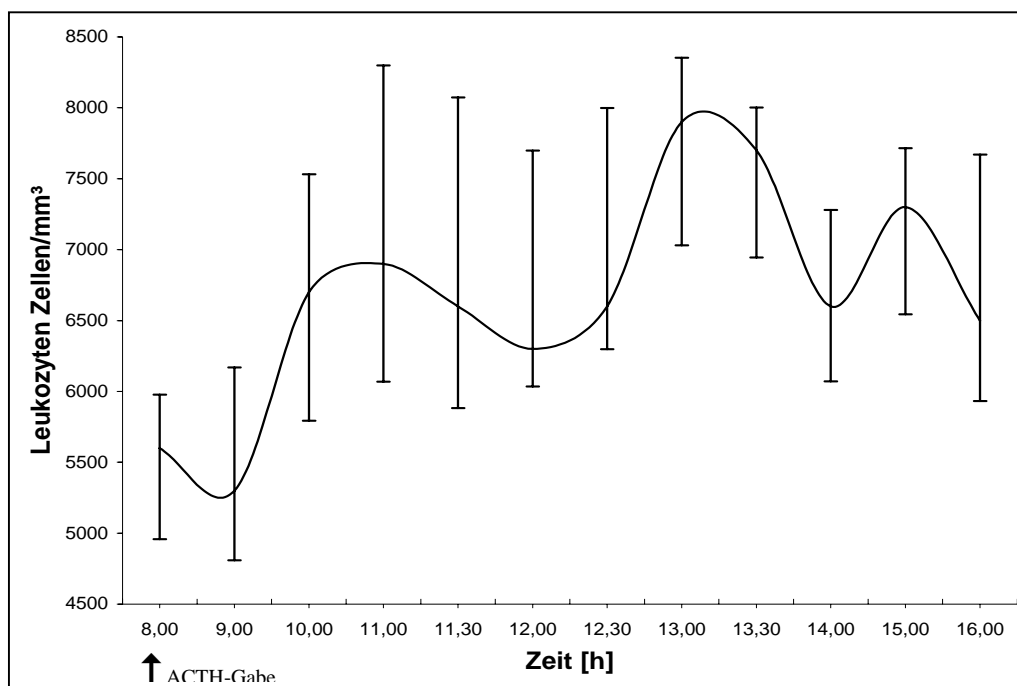
Abbildung 3-8: Vergleich der Cortisol und Leukozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe



3.2.2 Tag-Gruppe

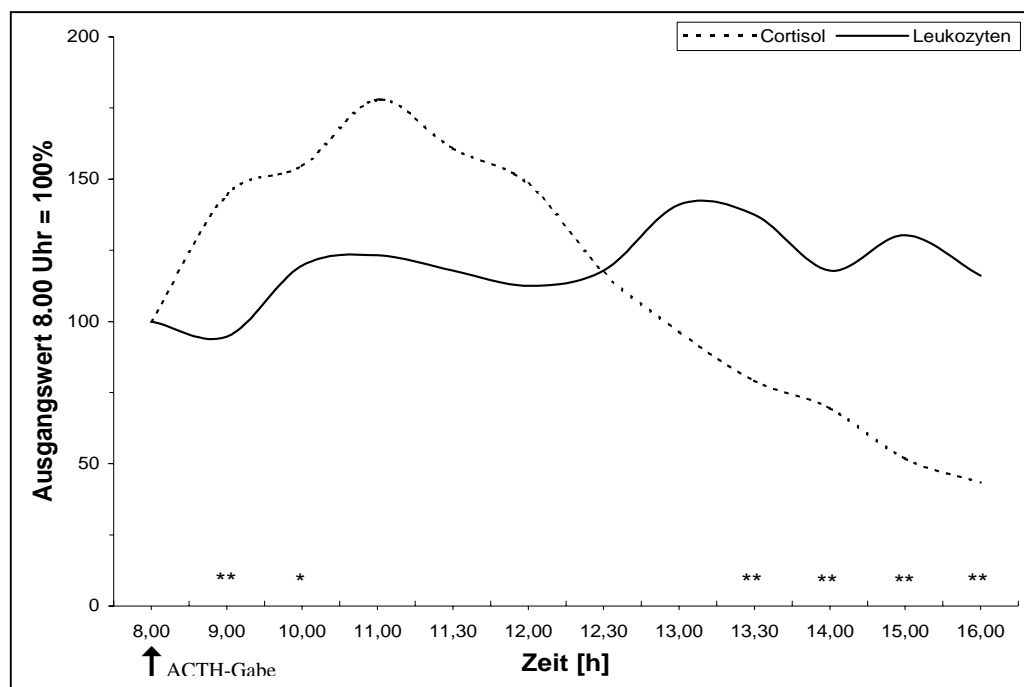
Der Verlauf der Leukozyten unter Stimulierung mit ACTH ist starken Schwankungen unterworfen die in einem scheinbar zweistündigem Rhythmus auftreten. Insgesamt kommt es jedoch in der ersten Stunde bei der Tag-Gruppe zu einem leichten Abfall, danach zu einem Anstieg um etwa 35% innerhalb der nächsten 2 Stunden. Dieser Anstieg ist von einem leichten Abfall gefolgt nachdem ein weiterer Anstieg zum Maximum gegen 13.00 Uhr folgt (etwa 50% über dem Ausgangswert). Im weiteren Verlauf fallen die Werte mit einer weiteren Schwankung wieder ab, erreichen jedoch nicht wieder den Ausgangswert.

Abbildung 3-9: Leukozytenkurve der Tag-Gruppe



Der Vergleich der Leukozytenkurve mit der Cortisolkurve zeigt den oben beschriebenen Verlauf. Die Darstellung macht aber den gesamten Anstieg der Leukozyten im Vergleich zum 8.00 Uhr Ausgangswert deutlicher während die Cortisolkurve den schon beschriebenen starken Anstieg nach ACTH-Gabe mit anschließendem Abfall zeigt. Hierbei sind die Werte am Morgen (9.00 und 10.00 Uhr) und am Nachmittag (ab 13.30 Uhr) im Mann-Whitney-U-Test signifikant unterschiedlich.

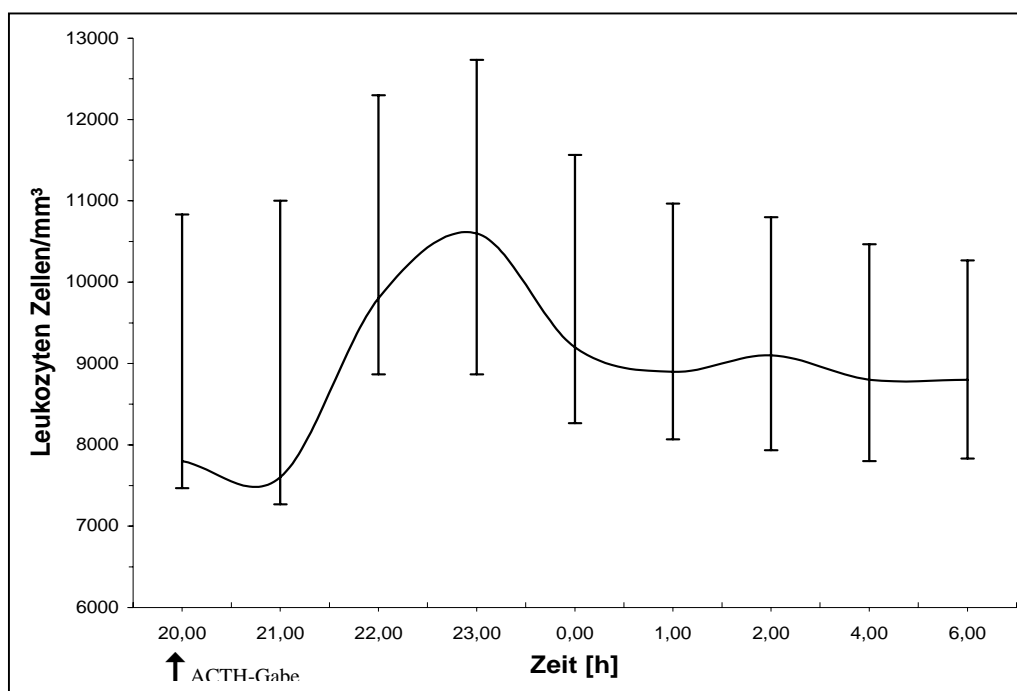
Abbildung 3-10: Vergleich der Cortisol- und Leukozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.2.3 Nacht-Gruppe

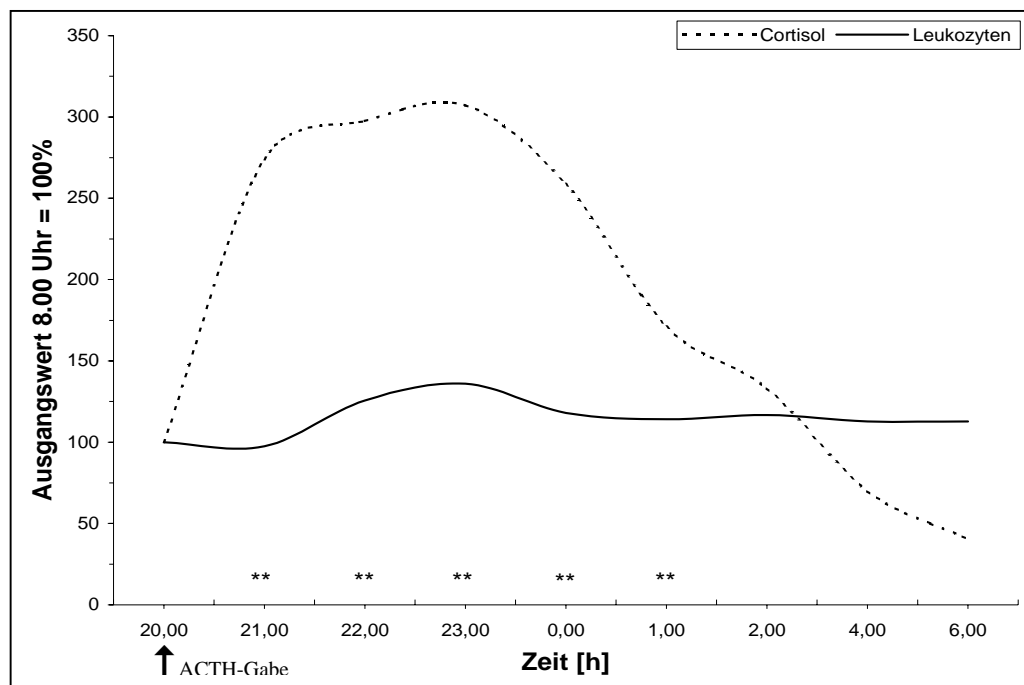
Auch hier kommt es in der ersten Stunde wie in der Tag-Gruppe zu einem leichten Abfall, danach kommt es zu einem Anstieg von etwa 30% innerhalb der nächsten 2 Stunden. Die Werte fallen dann, zunächst stark dann schwächer mit einer kleinen Schwankung am frühen Morgen gegen 2.00 Uhr, bis zum Morgen ab.

Abbildung 3-11: Leukozytenkurve der Nacht-Gruppe



Das Bild beim Vergleich der Leukozytenkurve mit der Cortisolkurve ist in der Nacht-Gruppe wiederum ähnlich dem der Tag-Gruppe. Dem starken Anstieg des Cortisol steht auch hier ein leichter Abfall der Leukozyten in der ersten Stunde entgegen, dann erfolgt aber auch in der Nacht-Gruppe ein Anstieg. Der anschließende relative Abfall vom Maximalwert ist wie in der Tag-Gruppe langgestreckt und wesentlich weniger steil als der des Cortisol. Insgesamt zeigt sich aber wiederum ein Anstieg der Leukozytenwerte über den gesamten Kurvenverlauf im Vergleich zum Ausgangswert im Gegensatz zum primären Anstieg des Cortisol mit anschließendem Abfall unter den Ausgangswert zum Morgen. Die deutlich graphisch auseinanderweichenden Werte zwischen 21.00 Uhr und 1.00 Uhr zeigen auch in der statistischen Untersuchung signifikante Unterschiede.

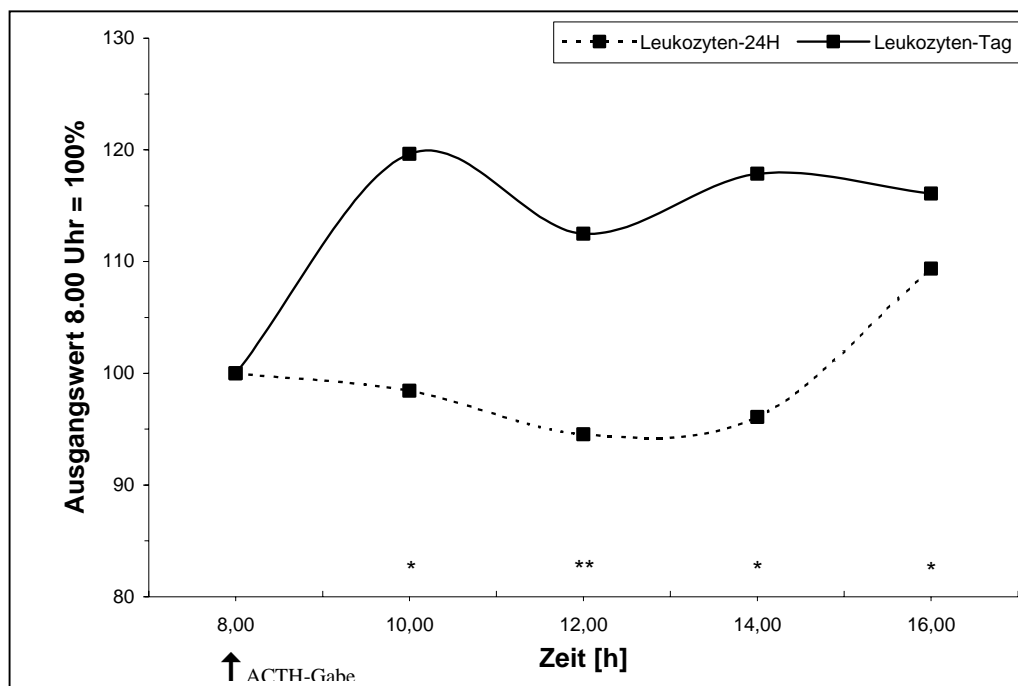
Abbildung 3-12: Vergleich der Cortisol- und Leukozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%



3.2.4 Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe

Während die Leukozyten der 24-Stunden-Gruppe zunächst einen Abfall und erst später einen Anstieg zeigen, kommt es bei den Leukozyten der Tag-Gruppe quasi entgegengesetzt sofort zu einem starken Anstieg mit einem späteren Abfall bzw. hohem Niveau. Der Einzelwert Vergleich mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergibt signifikante Werte.

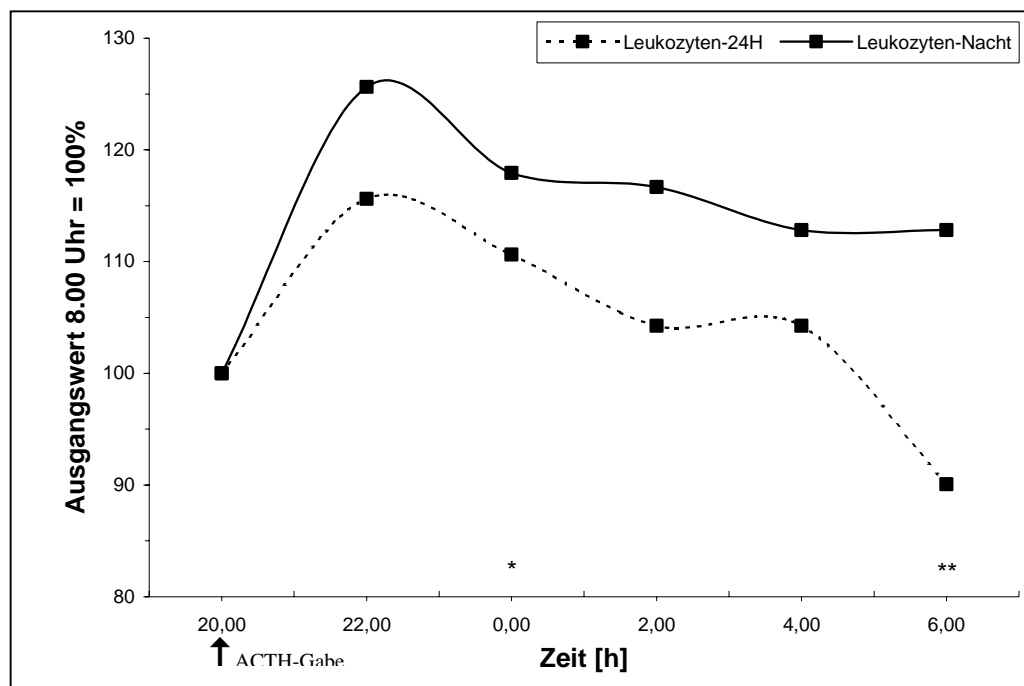
Abbildung 3-13: Vergleich der Leukozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.2.5 Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe

Bei ähnlichem Kurvenverlauf finden sich höhere Werte in der Nacht-Gruppe. Die Einzelwerte sind im Mann-Whitney-U-Test teilweise signifikant verschieden. Es kommt zum Morgen hin nicht zu einer Annäherung der Werte wie es im Vergleich der Tag-Gruppe zur 24h-Gruppe geschieht. Dadurch wird der 6.00 Uhr Wert signifikant.

Abbildung 3-14: Vergleich der Leukozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%

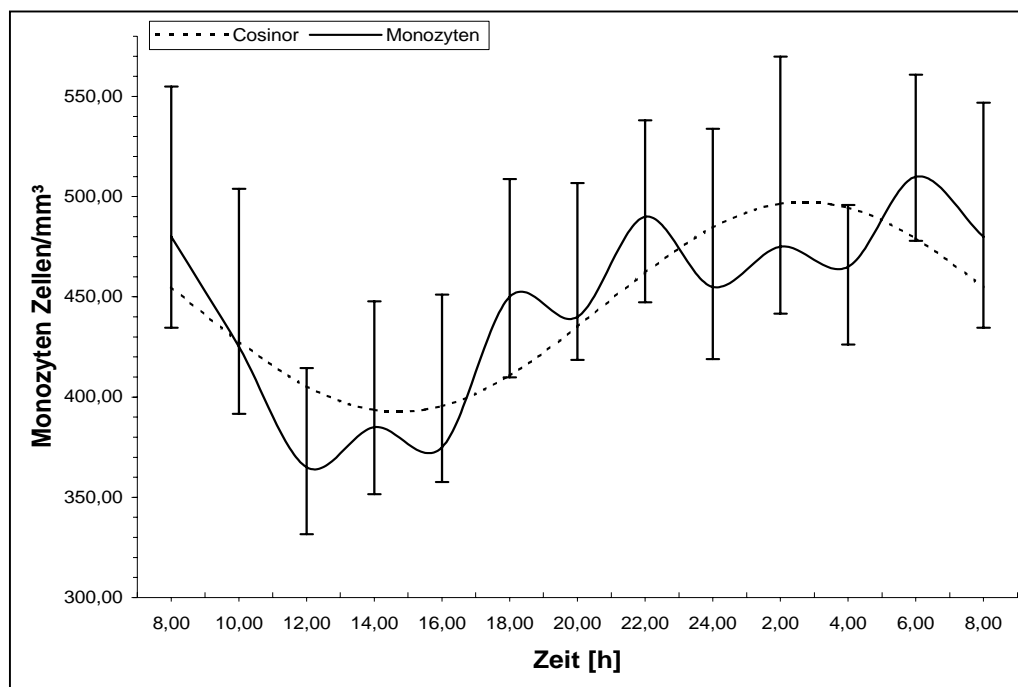


3.3 Monozyten

3.3.1 24h-Gruppe

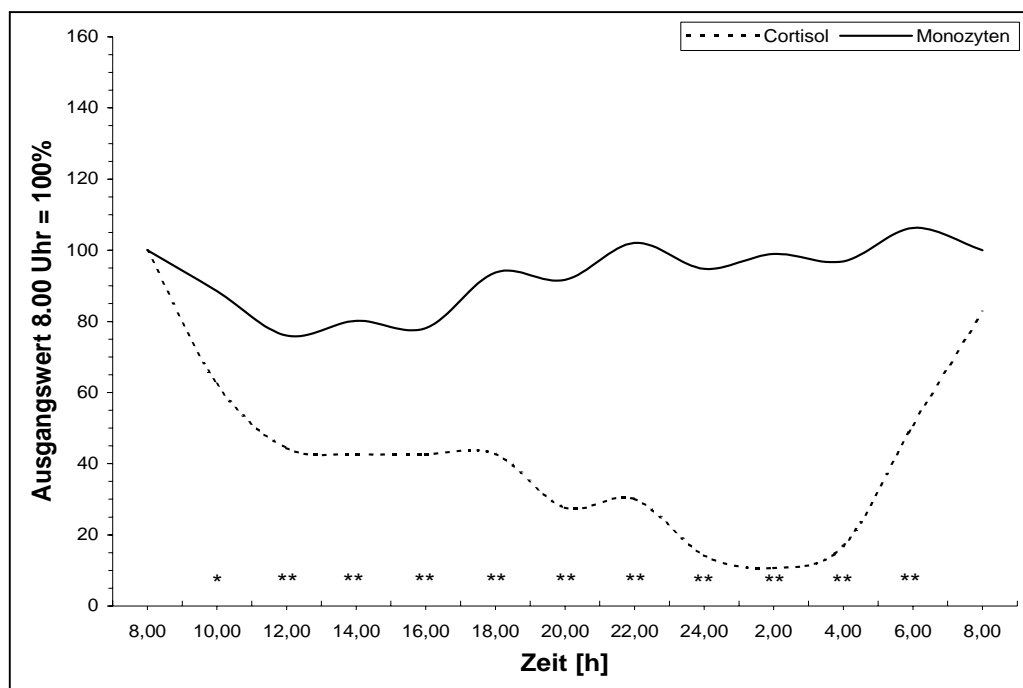
In den ersten vier Stunden kommt es bei den Monozyten zu einem Abfall um etwas über 20% des Ausgangswertes, danach jedoch zu einem Anstieg bis zum Maximum gegen 6.00 Uhr morgens. Dieser lang dauernde Anstieg ist jedoch schwankend und auch kurz vor dem Maximum noch durch einen leichten Abfall unterbrochen. Die Schwankungen treten in einem relativ regelmäßigen Abstand von zwei Stunden auf. Die Cosinorkurve entspricht der beschriebenen Rhythmik mit Minimum um 15.00 Uhr und Maximum um 5.00 Uhr.

Abbildung 3-15: Monozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe



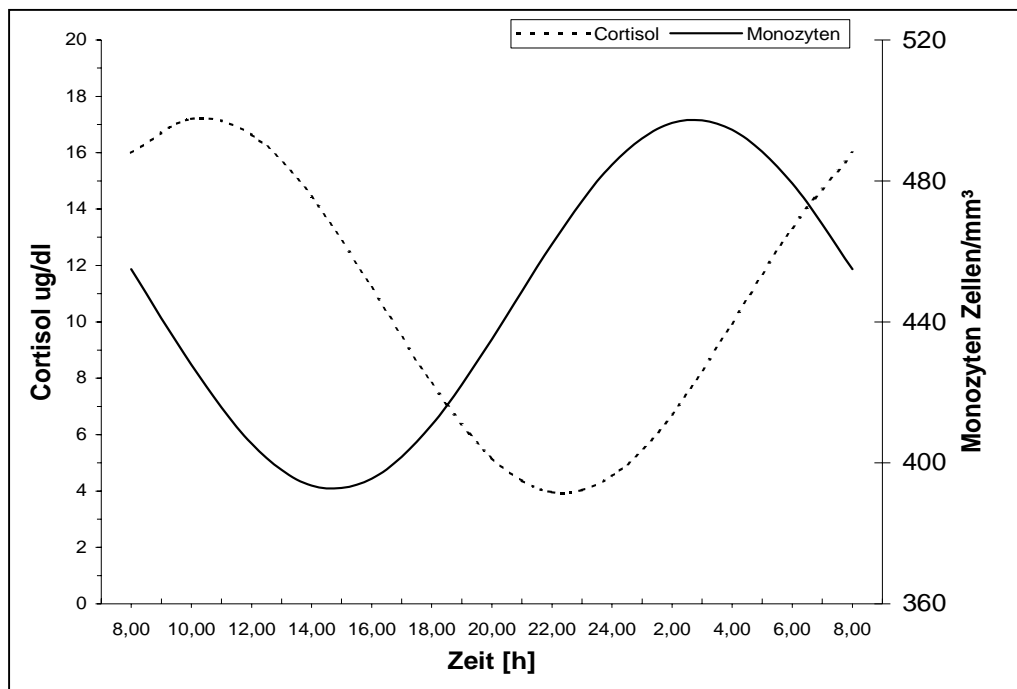
Der Vergleich der Monozytenkurve mit der Cortisolkurve zeigt eine gegensätzlich laufende Rhythmik der Monozyten, auch wenn diese nur relativ schwach ausgeprägt ist. Während die Cortisolwerte vom Morgen zur Nacht hin abfallen um dann wieder zu steigen, ist bei den Monozyten zwar auch, wie schon beschrieben zunächst ein Abfall feststellbar, dann folgt jedoch der lang gezogene Anstieg, während das Cortisol weiter fällt. Am Morgen, wenn das Cortisol beginnt zu steigen, fallen die Monozyten kurze Zeit später ab. Unterschiede der Einzelwerte, die die Verschiedenheit der beiden Verläufe belegen, zeigen sich während es gesamten Verlaufes ausser am Beginn und Ende.

Abbildung 3-16: Vergleich der Cortisol- und Monozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%



Der beschriebene unterschiedliche Tagesverlauf wird durch die gemeinsame Darstellung der beiden Cosinorkurven noch weiter deutlich. Mit einer zeitlichen Versetzung von etwa 6 Stunden verlaufen diese gegensätzlich.

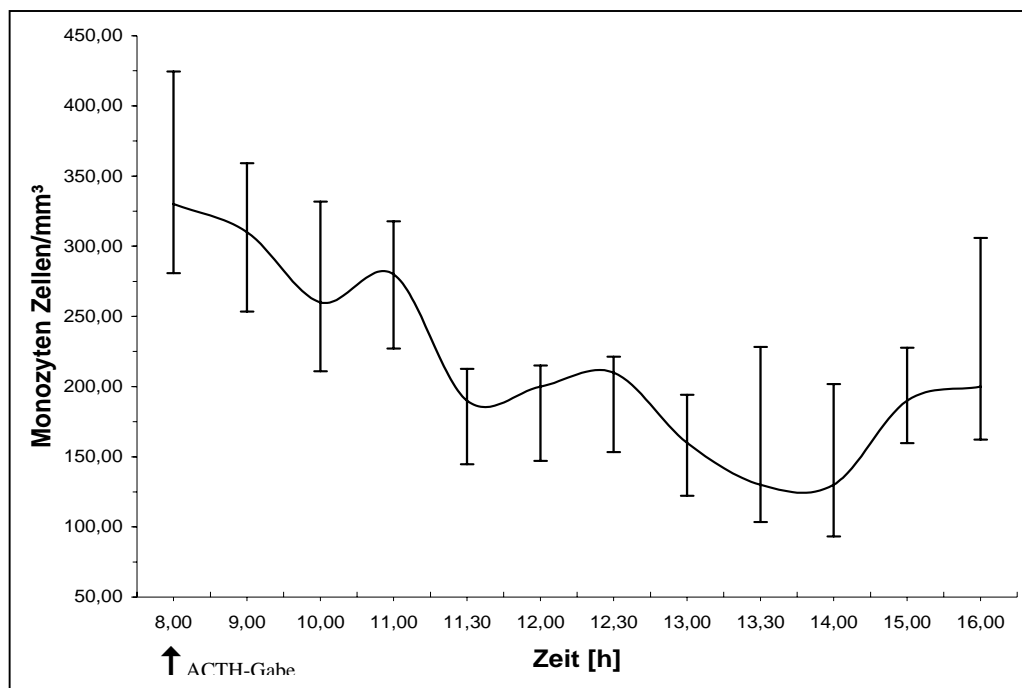
Abbildung 3-17: Vergleich der Cortisol und Monozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe



3.3.2 Tag-Gruppe

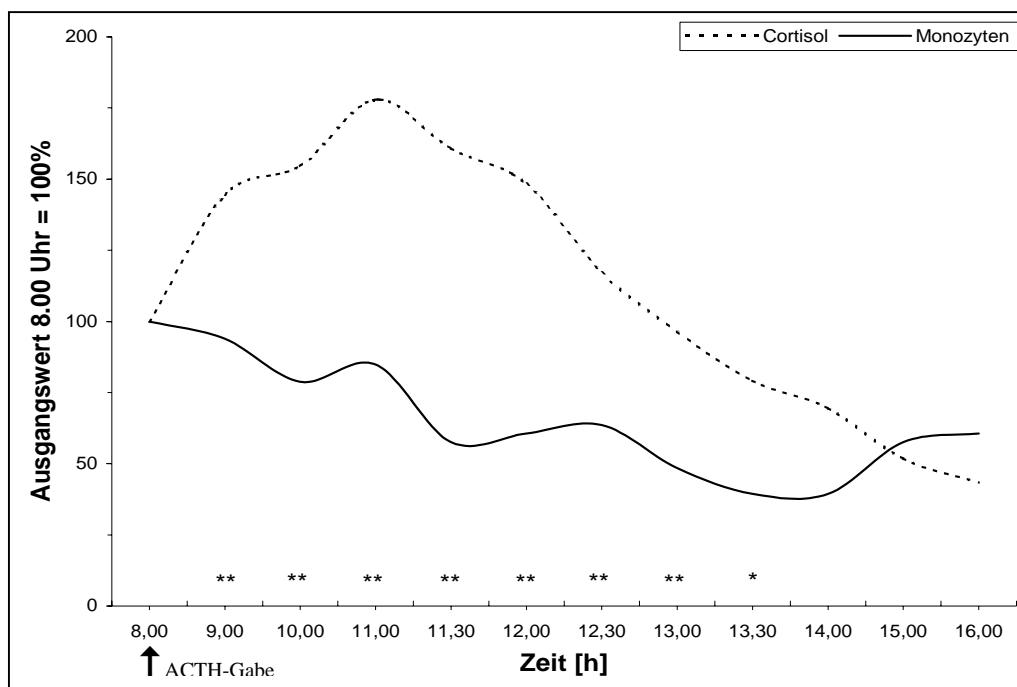
In der Tag-Gruppe zeigen die Monozyten einen deutlichen Abfall. Mit leichten Schwankungen kommt es in den ersten zwei Stunden zu einem Abfall von etwa 20%, in 3,5 Stunden von etwa 50% und am Minimum gegen 14.00 Uhr zu einem Gesamtabfall von ca. 70%. Danach kommt es wieder zu einem Anstieg wobei aber der Ausgangswert nicht mehr erreicht wird.

Abbildung 3-18: Monozytenkurve der Tag-Gruppe



Monozyten und Cortisol zeigen in der Tag-Gruppe ein unterschiedliches Verhalten. Bei starkem Anstieg des Cortisol fallen die Monozyten. Dieser Abfall setzt sich auch bei beginnendem Abfall des Cortisol fort. Erst am Nachmittag steigen die Monozyten wieder an, während das Cortisol weiterhin fällt. Die statistische Untersuchung dieser Kurvenverläufe zeigt signifikante Werte während des gesamten Verlaufes ausser zu Beginn und Ende der Messungen.

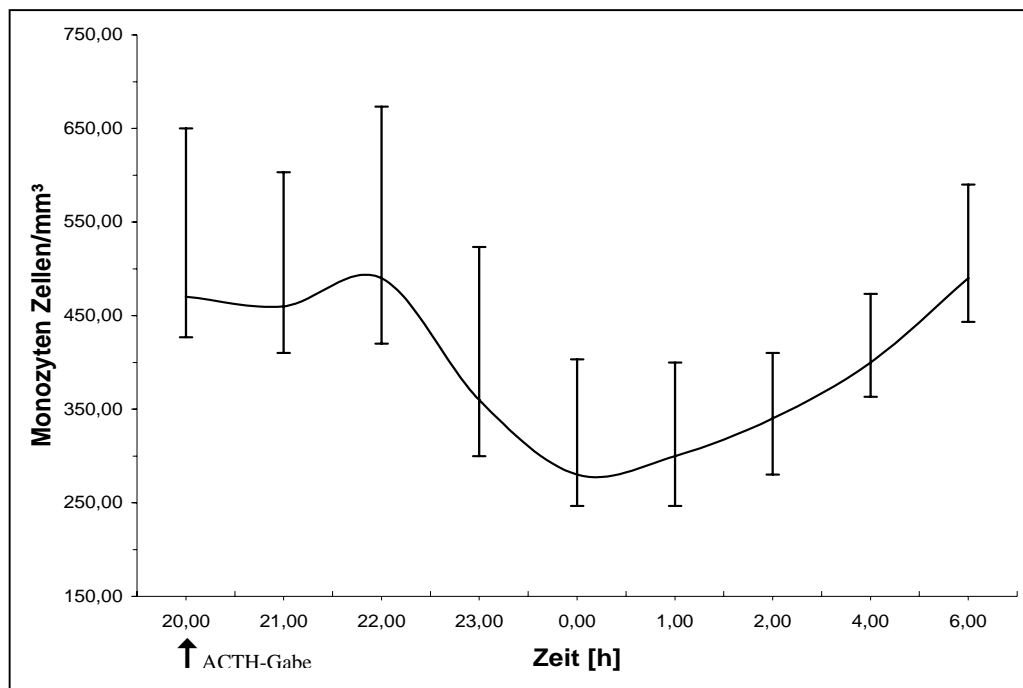
Abbildung 3-19: Vergleich der Cortisol- und Monozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.3.3 Nacht-Gruppe

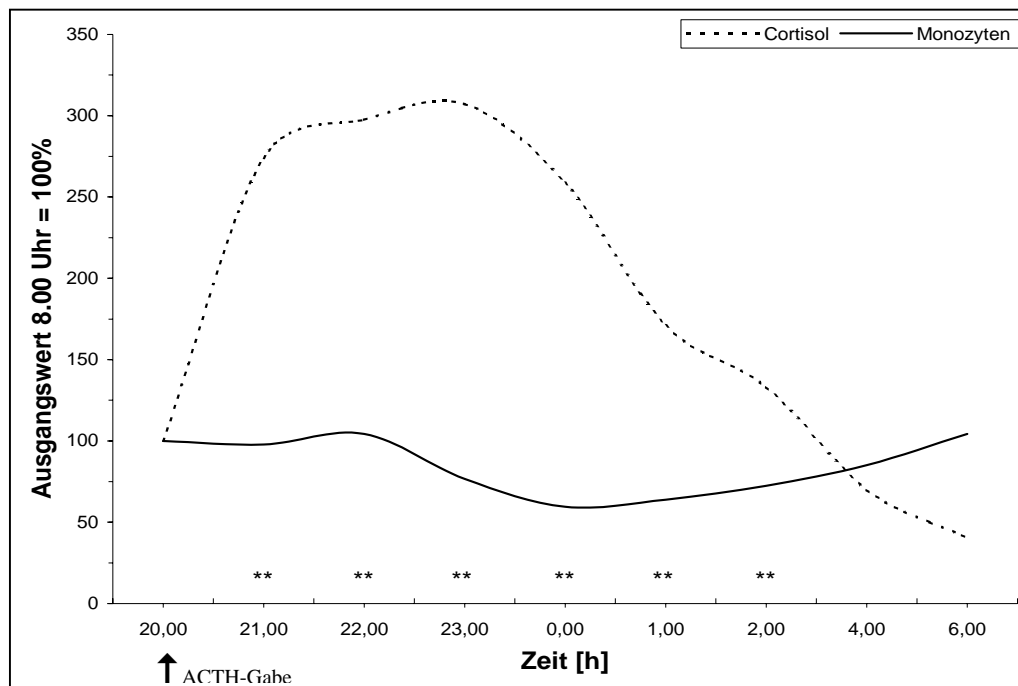
Nach kaum einer Veränderung in der ersten Stunde und einem leichten Anstieg in der zweiten Stunde fallen die Monozyten der Nacht-Gruppe zwischen 22.00 Uhr und Mitternacht um etwa 40% des Ausgangswertes. Danach kommt es nach einer kurzen Pause zu einem langgezogenen, leicht parabelförmigen Anstieg bis zum Morgen, bei dem der Ausgangswert sogar noch überschritten wird.

Abbildung 3-20: Monozytenkurve der Nacht-Gruppe



Der Vergleich von Monozyten und Cortisol zeigt bei starkem Anstieg des Cortisol nur einen minimalen Anstieg der Monozyten. Kurz vor Erreichen des Maximum des Cortisol beginnen die Monozytenzahlen zu fallen. Dieser Abfall geht weiter während das Cortisol das Maximum durchläuft und zu fallen beginnt. Erst mit Verzögerung im Vergleich zum Abfall des Cortisol beginnen die Monozytenwerte dann zu steigen. Der Verlauf der beiden Kurven ist signifikant unterschiedlich während der Mittelphase, nur Anfangs- und Endwerte sind nicht statistisch zu trennen.

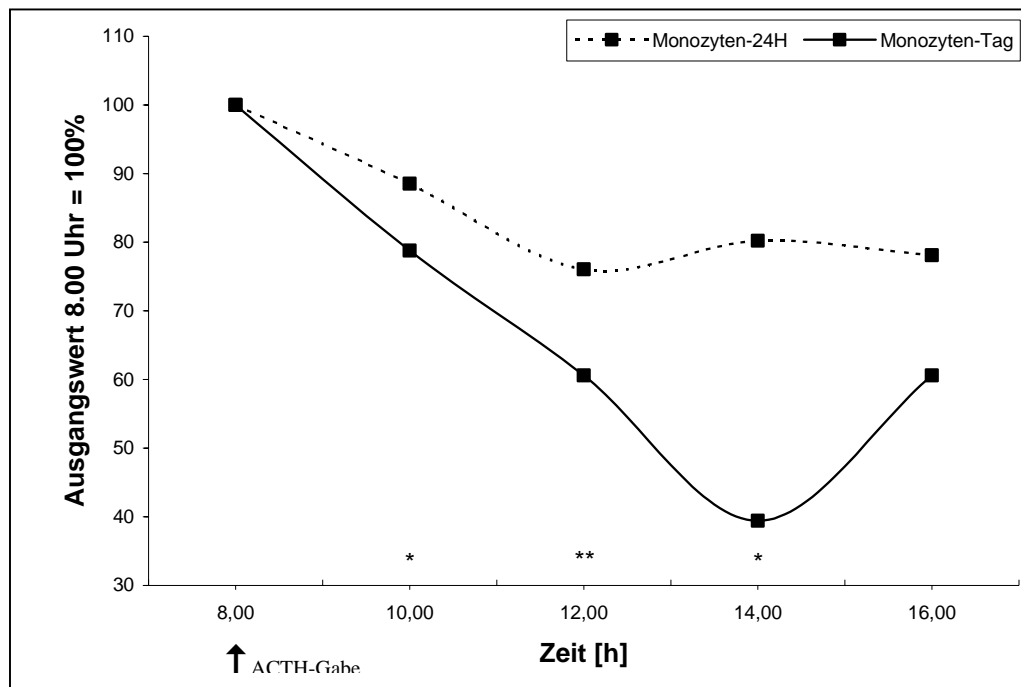
Abbildung 3-21: Vergleich der Cortisol- und Monozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%



3.3.4 Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe

Der direkte Vergleich der gleichen Uhrzeiten entsprechenden Werte zeigt einen stärkeren Abfall der Werte in der Tag-Gruppe, der auch länger andauert. Erst gegen Ende der Messungen kommt es zu einem Anstieg, der so in der 24h-Gruppe nicht vorhanden ist und die Werte einander wieder annähert. Der Einzelwert Vergleich mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergibt signifikante Werte um 10.00 Uhr, 12.00 Uhr und 14.00 Uhr.

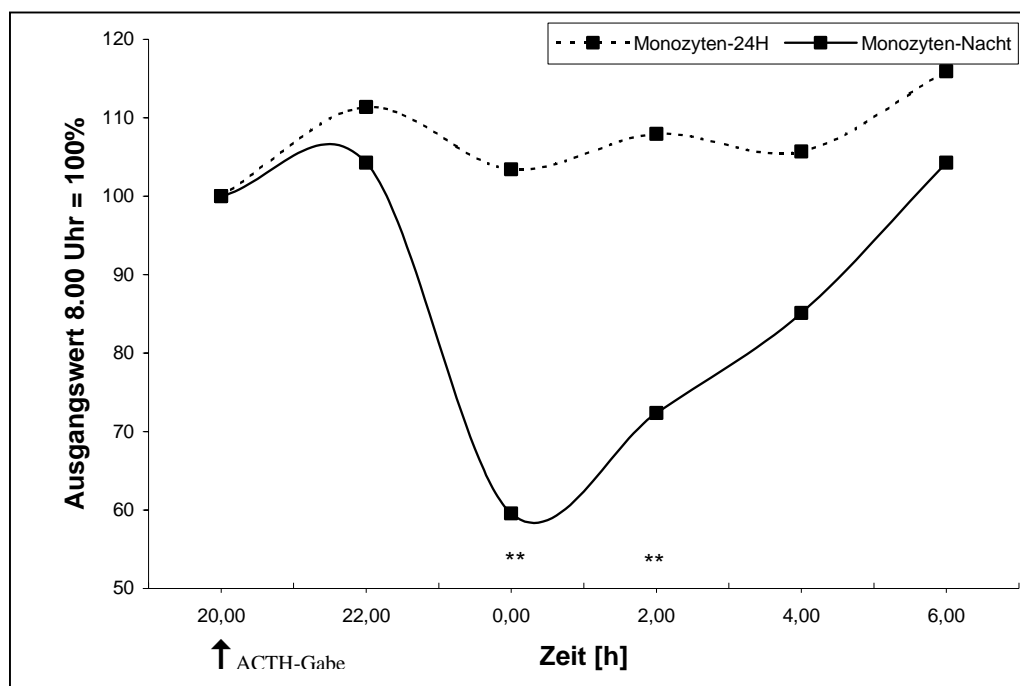
Abbildung 3-22: Vergleich der Monozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100



3.3.5 Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe

In der Nacht-Gruppe findet man bei den Monozyten in den ersten zwei Stunden einen fast parallelen Verlauf der Kurven, dann kommt es aber zum starken Abfall der Monozyten in der Nacht-Gruppe. Der fast ebenso starke Anstieg der Nacht-Gruppe führt zu einer starken Annäherung der Werte gegen Ende und einem fast parallelen Verlauf während der letzten zwei Stunden. Die Einzelwerte sind an den Punkten der größten Differenz signifikant verschieden nicht jedoch in den ähnlichen Verlaufsabschnitten zu Beginn und Ende der Messungen.

Abbildung 3-23: Vergleich der Monozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%

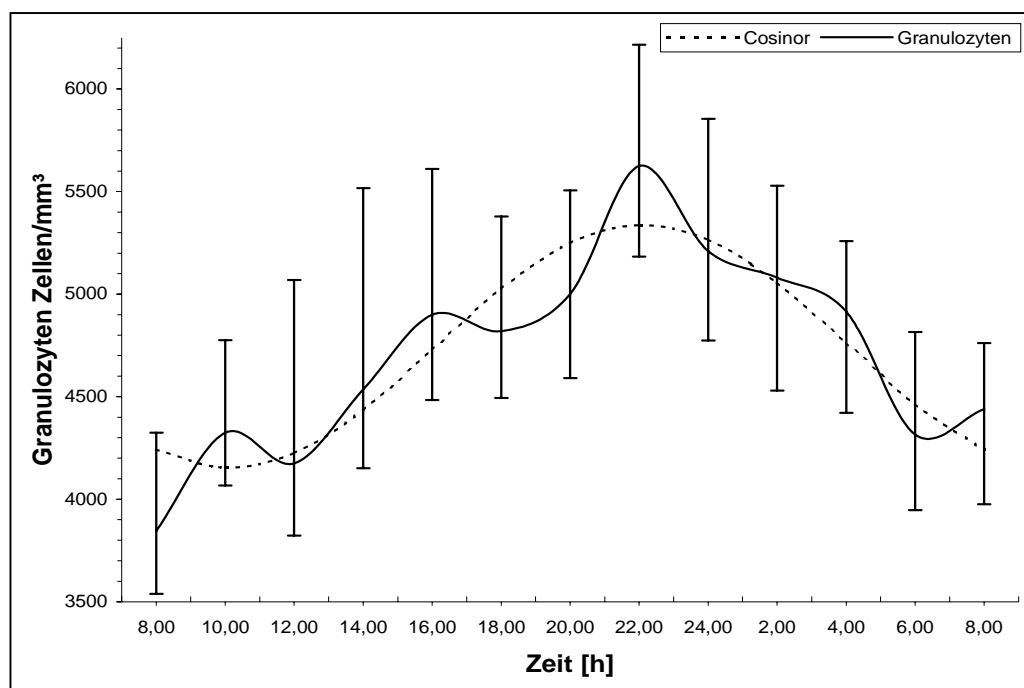


3.4 Granulozyten

3.4.1 24h-Gruppe

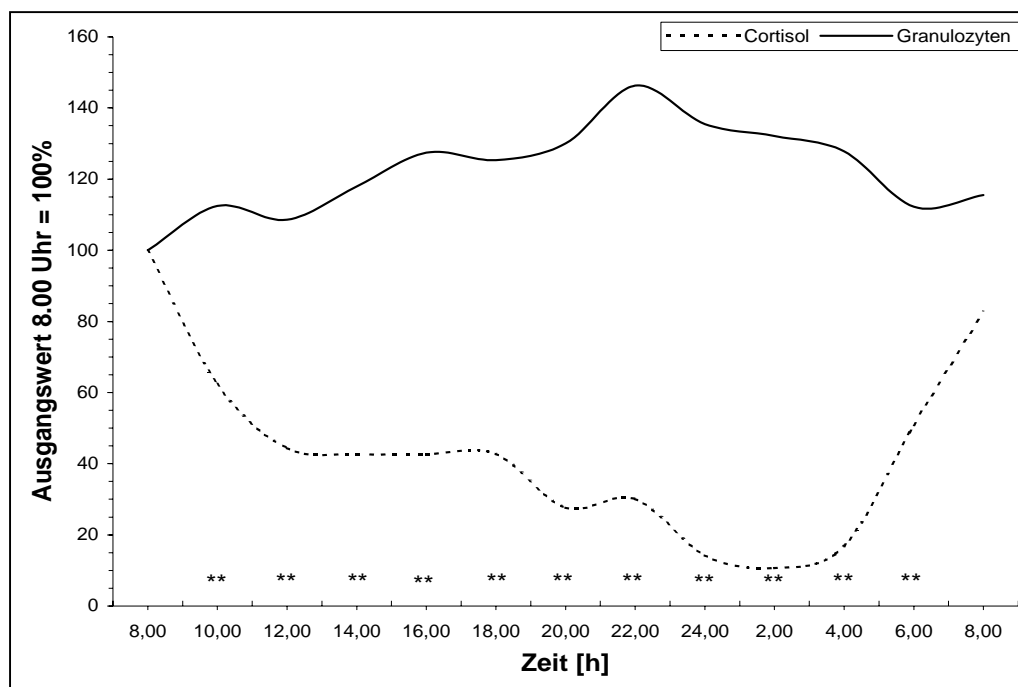
Die Granulozyten steigen über den gesamten Tag hin an, bis zum Maximum gegen 22.00 Uhr. Danach erfolgt der Abfall bis zum Morgen. Die Schwankungen treten mit einer Regelmäßigkeit alle 6 Stunden auf wie auch schon bei den Leukozyten. Der Verlauf wird durch die Cosinor-Funktion mit Zenith gegen 22.00 Uhr und Nadir um 10.00 Uhr gut dargestellt.

Abbildung 3-24: Granulozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe



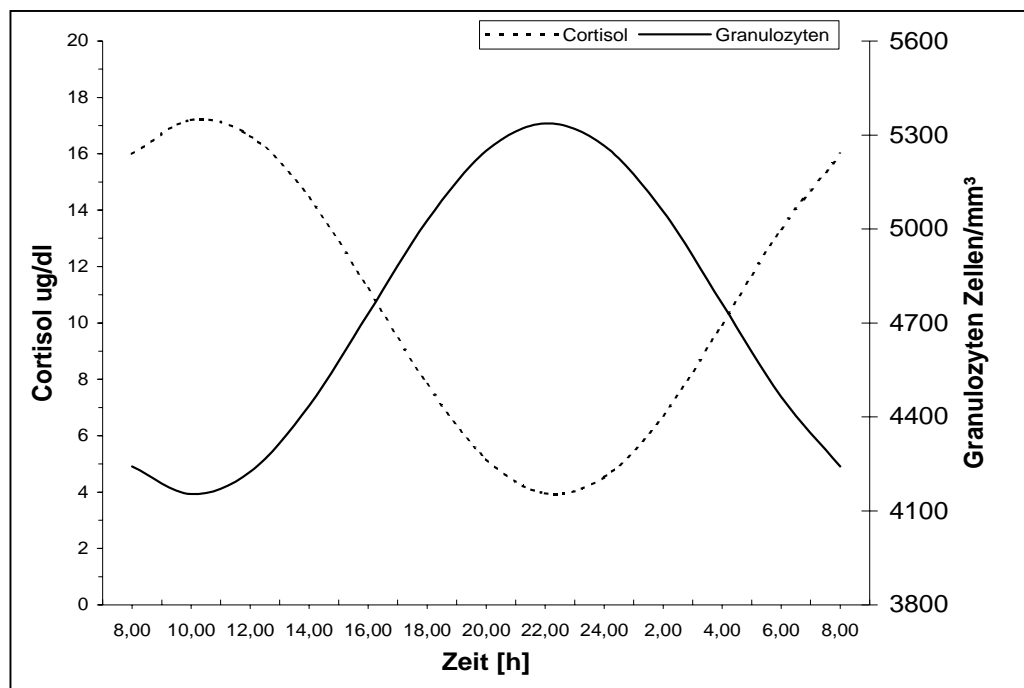
Beim Vergleich der Granulozyten mit dem Cortisol zeigt sich insgesamt ein umgekehrter Verlauf der beiden Kurven. Während die Granulozyten wie beschrieben über den Tag ansteigen und in der Nacht ihr Maximum haben, ist dies beim Cortisol genau umgekehrt. Die Einzelmessungen zeigen daher auch entsprechende signifikante Unterschiede im Mann-Whitney-U-Test zu allen Messwerten ausser zu Beginn und am Ende der Messung wo sich die Werte gleich, bzw. ähnlich sind.

Abbildung 3-25: Vergleich der Cortisol- und Granulozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%



Der direkte Vergleich der Cosinorkurven beider Parameter zeigt diese Gegenläufigkeit der Rhythmik noch deutlicher auf. Minima und Maxima der beiden Kurven liegen fast genau entgegengesetzt mit einer kleinen Zeitverschiebung von etwa einer halben Stunde.

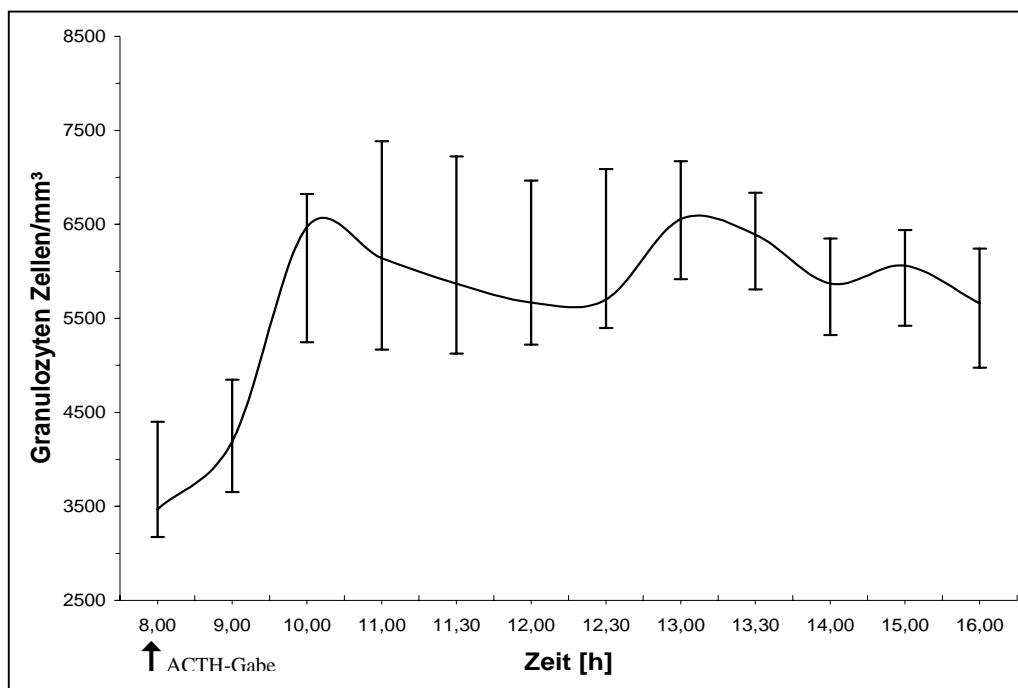
Abbildung 3-26: Vergleich der Cortisol und Granulozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe



3.4.2 Tag-Gruppe

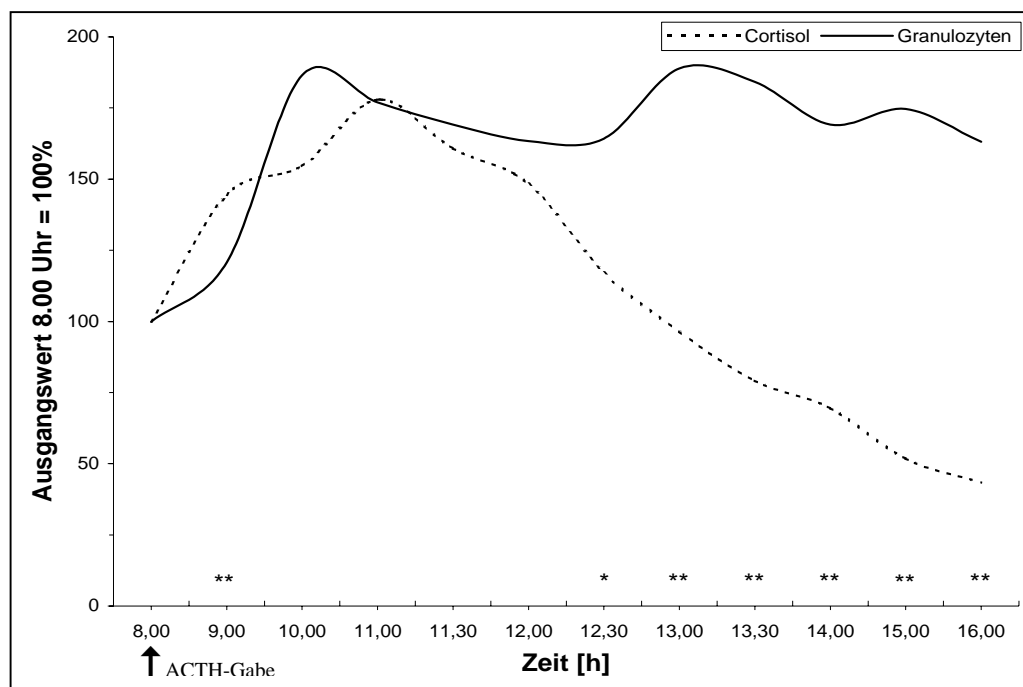
Die Granulozyten steigen in den ersten zwei Stunden des Verlaufes um fast 50 % an. Im Anschluss an dieses erste lokale Maximum um 10.00 Uhr kommt es zu einem langsamen Abfall bis um etwa 12.30 Uhr. Danach kommt es zu einem zweiten kurzen, aber steilen Anstieg zum Maximum des Tagesverlaufes um 13.00 Uhr wonach die Kurve dann wieder abfällt, wobei der Ausgangswert nicht wieder erreicht wird. Insgesamt kommt es somit zwischen 10.00 Uhr und 16.00 Uhr kaum zu einer Verringerung der Werte, sondern die Werte bleiben auf einem hohen Niveau und schwanken dort.

Abbildung 3-27: Granulozytenkurve der Tag-Gruppe



Der Vergleich der Granulozyten- mit der Cortisolkurve zeigt in den ersten zwei bzw. drei Stunden den gleichzeitigen starken Anstieg des Cortisol und der Granulozyten. Der anschließende Abfall des Cortisol wird begleitet von dem Plateau ähnlichen langsam Abfall der Granulozyten mit Zwischenhoch bei 13.00 Uhr. Die statistische Untersuchung dieser Kurvenverläufe zeigt aufgrund der zeitweisen Parallelität nur Signifikante Werte um 9.00 Uhr und am Nachmittag.

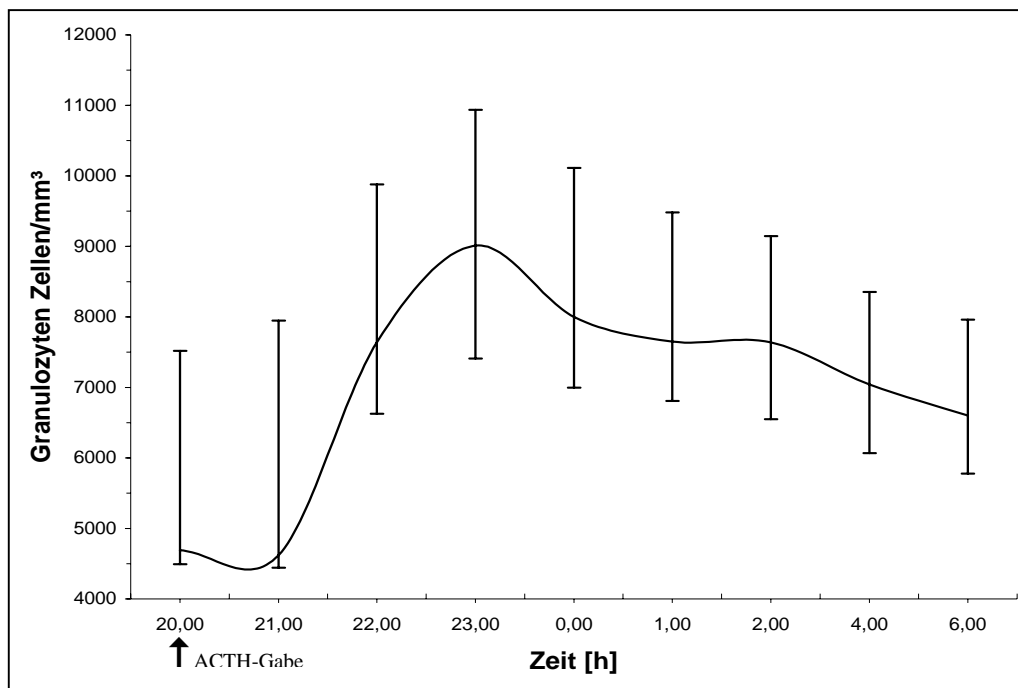
Abbildung 3-28: Vergleich der Cortisol- und Granulozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.4.3 Nacht-Gruppe

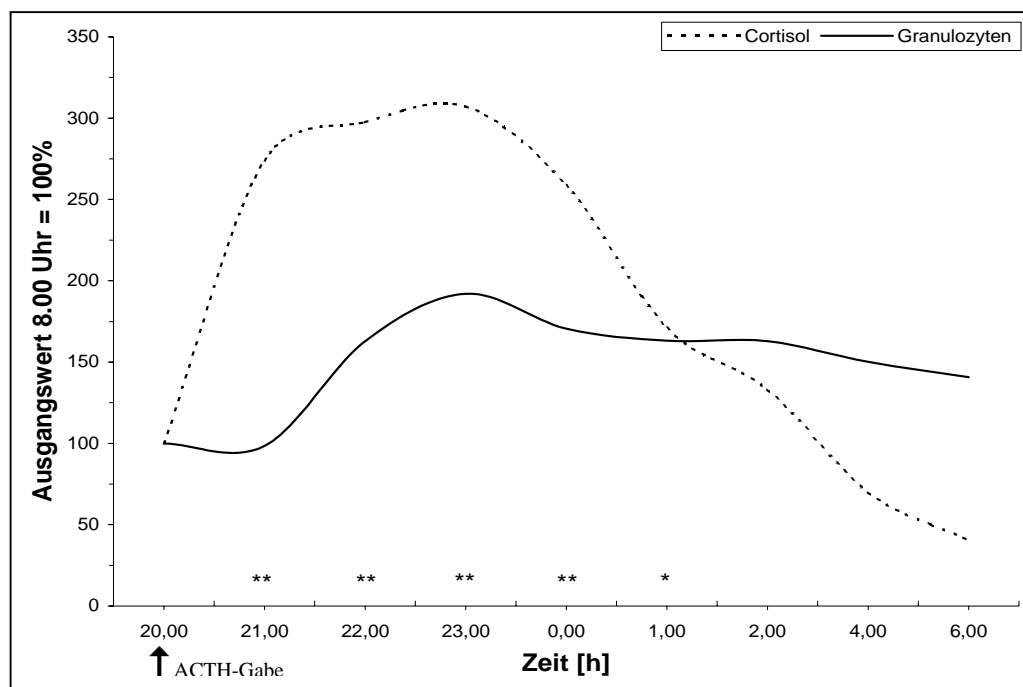
In der Nacht-Gruppe ist der Verlauf ähnlich dem der Tag-Gruppe. Jedoch ist hier zunächst ein kurzer Abfall innerhalb der ersten Stunde zu verzeichnen, gefolgt von einem deutlichen Anstieg von ca. 50%. Der folgende Abfall bis zum Morgen ist jedoch stärker ausgeprägt als der der Tag-Gruppe und es kommt nicht zu einer plateauartigen Phase. Der Ausgangswert wird jedoch auch hier nicht wieder erreicht.

Abbildung 3-29: Granulozytenkurve der Nacht-Gruppe



Beim Vergleich der Granulozyten und Cortisol ist nach dem Abfall der ersten Stunde hier ein etwas schwächerer Anstieg der Granulozyten als beim Cortisol zu verzeichnen. Der Abfall beider Kurven ist ebenfalls beim Cortisol stärker ausgeprägt. Die einzelnen Werte zeigen, ausser an den Kreuzungsstellen der Kurven und gegen Ende, in der Nacht deutliche Signifikanzen, was die Unterschiedlichkeit der Kurven auch statistisch hervorhebt.

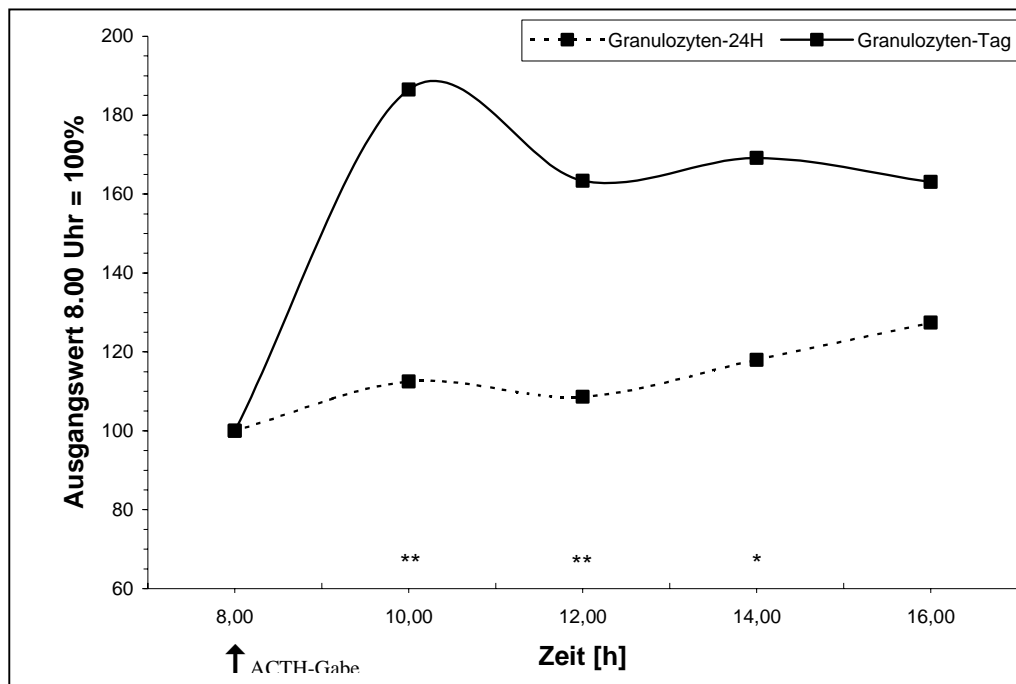
Abbildung 3-30: Vergleich der Cortisol- und Granulozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%



3.4.4 Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe

Der direkte Vergleich der Granulozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe zeigt bei der Tag-Gruppe den deutlich stärkeren Anstieg der Werte nach der ACTH-Gabe. Danach kommt es durch den deutlichen Abfall der Werte der Tag-Gruppe wieder zu einer Annäherung der Kurven. Der Einzelwert Vergleich mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergibt signifikante Werte um 10.00 Uhr, 12.00 Uhr und 14.00 Uhr.

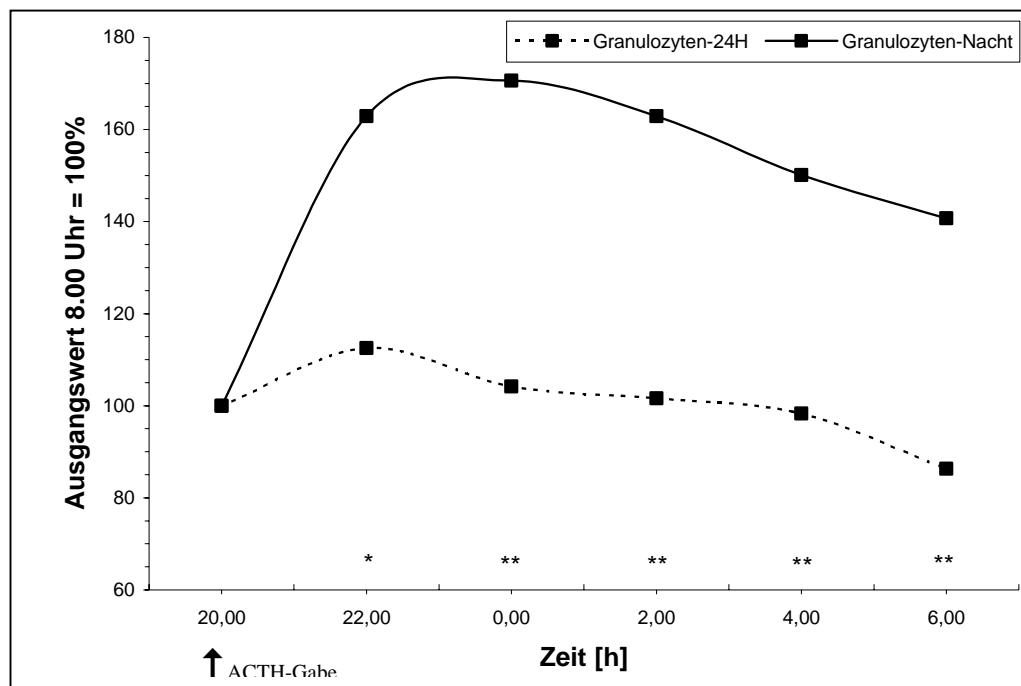
Abbildung 3-31: Vergleich der Granulozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100



3.4.5 Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe

Die graphische Darstellung zeigt bei der 24-Stunden-Gruppe im Vergleich zur Nacht-Gruppe bei den Granulozyten hier den ebenfalls sehr starken Anstieg der Granulozyten nach der ACTH-Gabe und das anschließende praktisch parallel verlaufende Abfallen beider Kurven. Hierdurch kommt es nicht mehr zu einer Annäherung der Kurven, weshalb alle Einzelwerte ab 22.00 Uhr im Mann-Whitney-U-Test signifikant verschieden sind.

Abbildung 3-32: Vergleich der Granulozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100

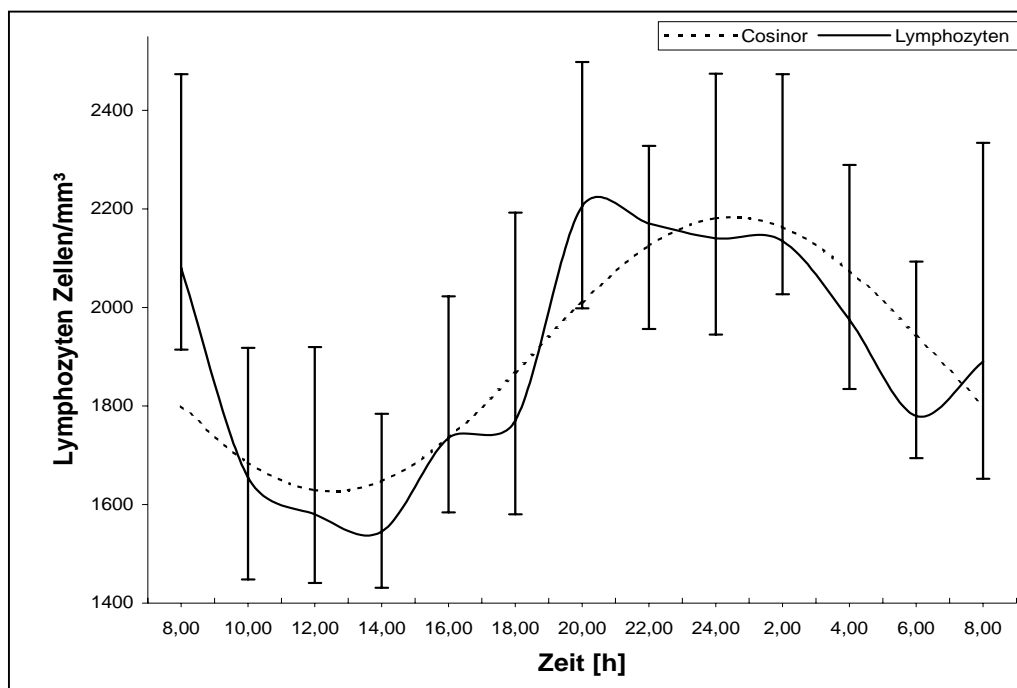


3.5 Lymphozyten

3.5.1 24h-Gruppe

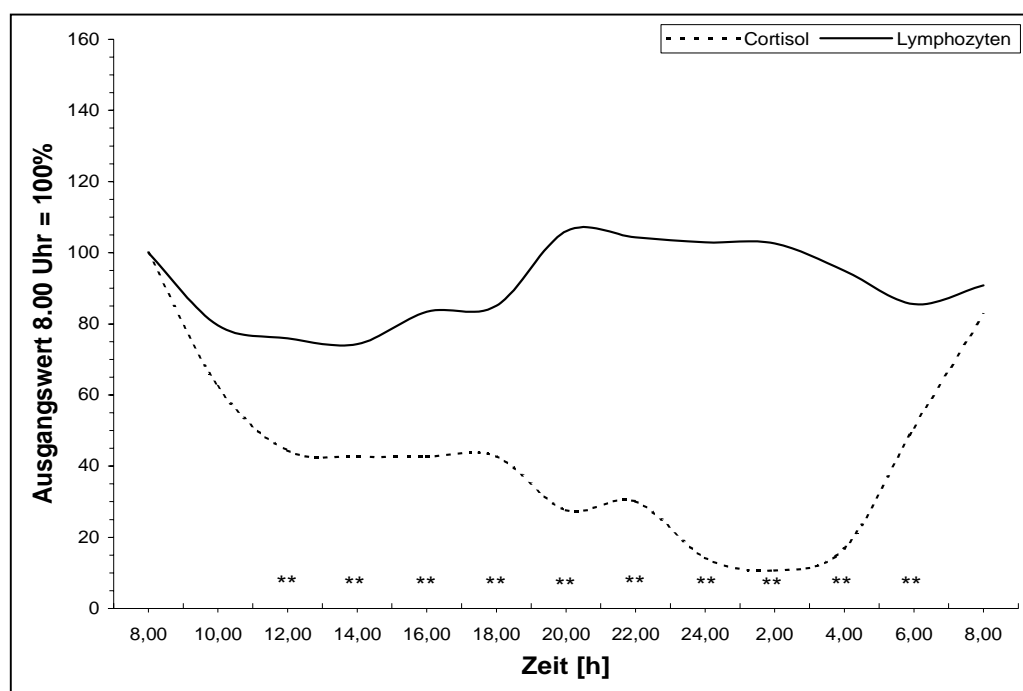
Die Lymphozyten fallen am Vormittag ab, erreichen ihr Minimum gegen 14.00 Uhr und ihr Maximum nach leicht schwankendem Anstieg gegen 20.00. Nach zunächst nur geringem Abfall bis ca. 2.00 Uhr kommt es dann im weiteren Verlauf zum Abfall der Werte bis um 6.00 Uhr wonach die Werte wieder leicht steigen. Die Cosinorfunktion bildet diesen Verlauf mit Minimum gegen 12.00 Uhr und Maximum gegen 24.00 Uhr ab.

Abbildung 3-33: Lymphozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe



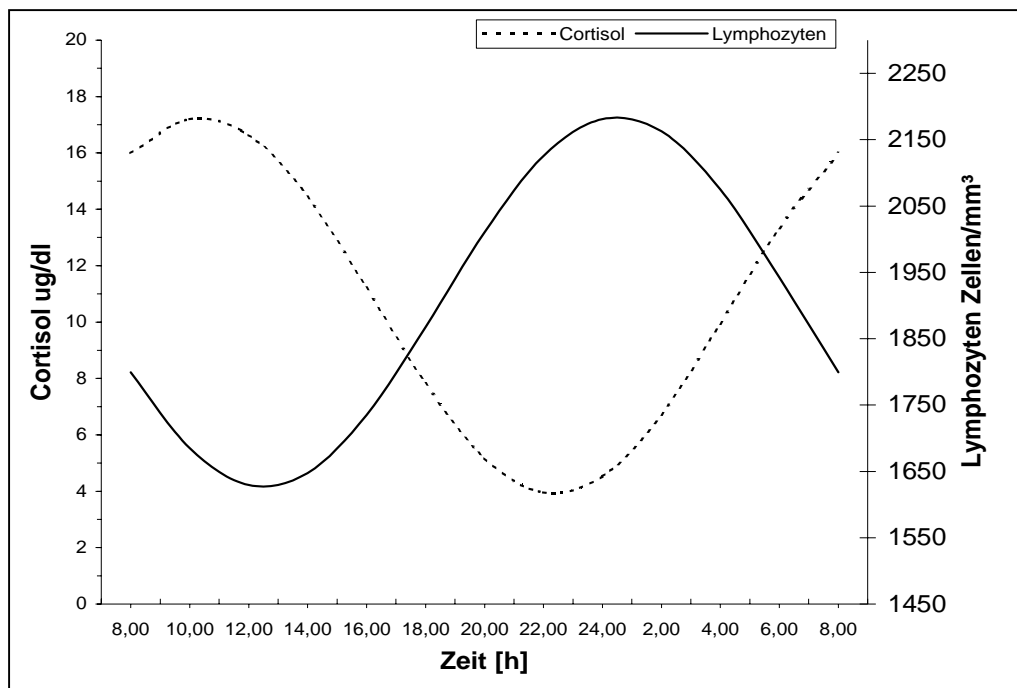
Beim Vergleich der Lymphozyten mit dem Cortisol zeigt sich bei beiden ein Abfall am Morgen, der jedoch bei den Lymphozyten nur bis zum Mittag andauert, beim Cortisol ja bis in die frühen Morgenstunden reicht. Anschließend verlaufen die Kurven eher entgegengesetzt und während die Cortisolwerte das niedrige Niveau erreichen befinden sich die Lymphozyten im Bereich der Maximalwerte. Der statistische Vergleich mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests liefert entsprechend signifikante Unterschiede der Kurvenwerte im mittleren Verlauf am Morgen bis in die Nacht, was die Unterschiedlichkeit der Kurven unterstreicht.

Abbildung 3-34: Vergleich der Cortisol- und Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%



Der direkte Vergleich der Cosinorkurven von Cortisol und Lymphozyten zeigt wie bei den vorangegangenen Zelltypen die beschriebene Gegenläufigkeit der Tagesverläufe noch besser. Minima und Maxima der beiden Kurven liegen etwa 3 Stunden zeitversetzt bei entgegengesetzter Rhythmik. Während die Cortisolkurve den Zenith am Morgen durchläuft, nähern sich die Lymphozytenwerte dem Minimum und entsprechend umgekehrt in der Nacht.

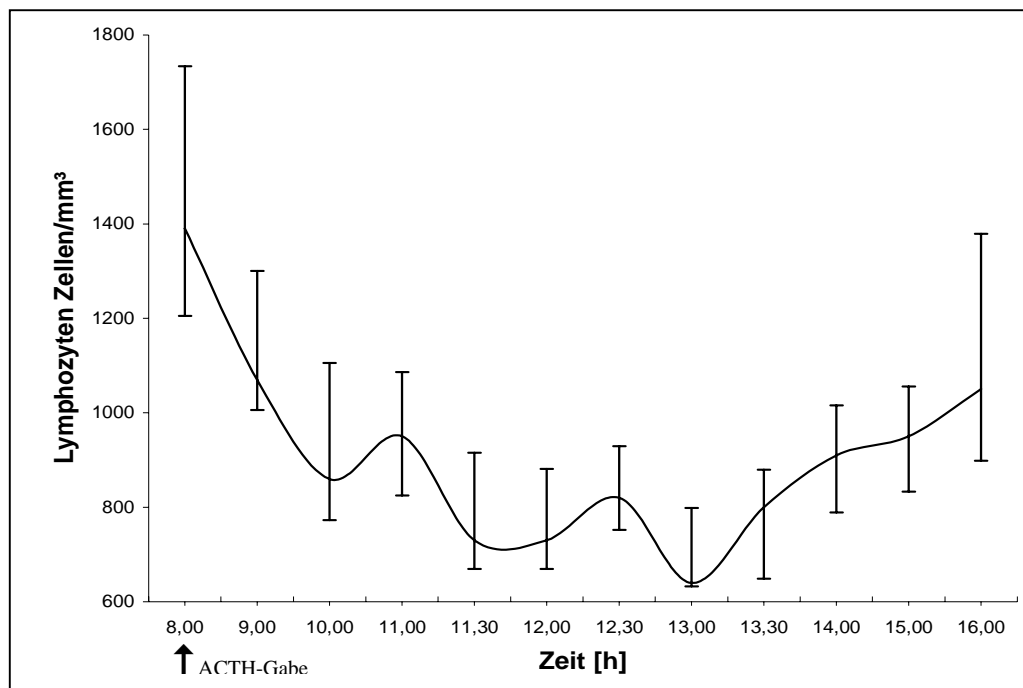
Abbildung 3-35: Vergleich der Cortisol und Lymphozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe



3.5.2 Tag-Gruppe

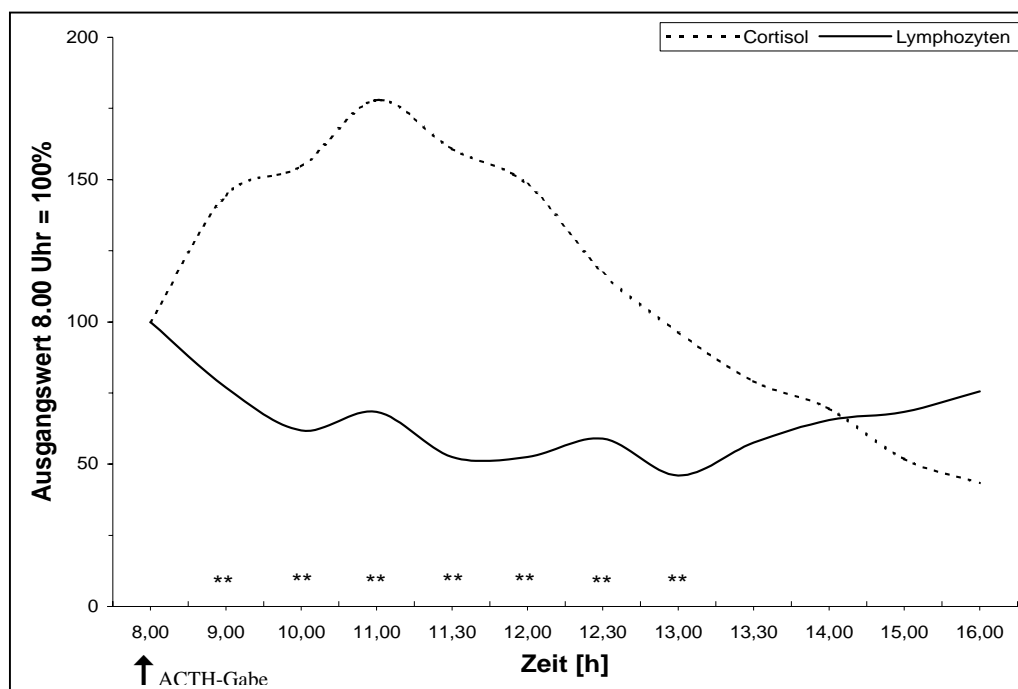
Die Lymphozyten fallen sehr stark innerhalb der ersten zwei Stunden auf etwa 60% des Ausgangswertes ab, erreichen ihr Minimum bei etwas unter 50% jedoch erst um etwa 13.00 Uhr mit mehreren Schwankungen im Verlauf dieses Abfalls. Dann kommt es über den Nachmittag zu einem Anstieg, der Ausgangswert vom Morgen wird jedoch nicht wieder erreicht.

Abbildung 3-36: Lymphozytenkurve der Tag-Gruppe



Der Vergleich der Lymphozyten- mit der Cortisolkurve zeigt bei starkem Anstieg des Cortisol am Vormittag einen entgegengesetzt verlaufenden ebenfalls starken Abfall der Lymphozyten. Während der Cortisolanstieg jedoch nach drei Stunden vorüber ist, fallen die Lymphozyten weiterhin ab. Erst am Nachmittag kommt es dann wieder zu einem gegenläufigen Anstieg der Lymphozyten bei weiterem Abfall des Cortisol. Die statistische Untersuchung dieser Kurvenverläufe zeigt bei den einzelnen Werten Signifikanzen zwischen 9.00 Uhr und 13.00 Uhr. Dies bestätigt, dass die Kurvenverläufe in diesem Bereich entsprechend unterschiedlich sind.

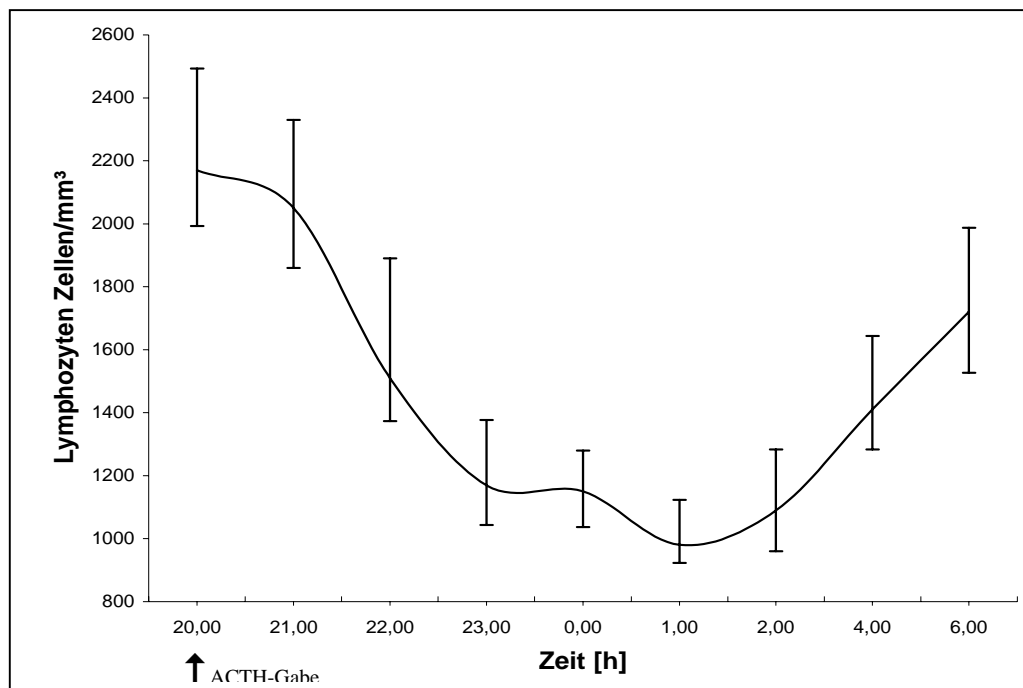
Abbildung 3-37: Vergleich der Cortisol- und Lymphozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.5.3 Nacht-Gruppe

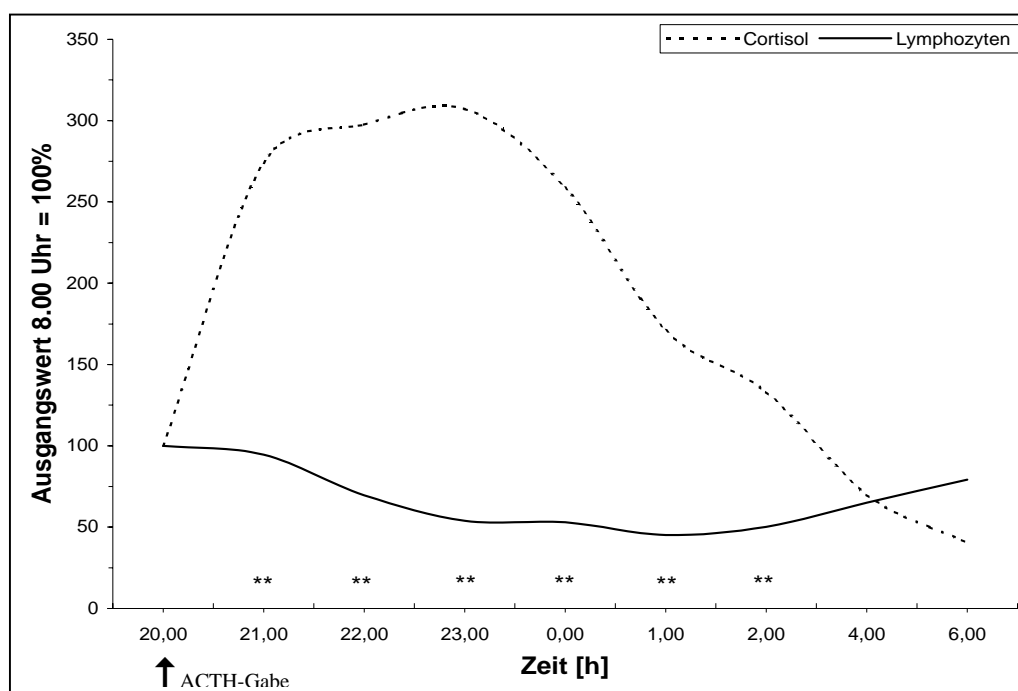
Hier ist nach nur geringem Abfall in der ersten Stunde ein starker Abfall der Lymphozyten bis um 23.00 Uhr auf fast 50% des Ausgangswertes festzustellen. Nach einer plateauartigen Phase kommt es noch zu einem weiteren Abfall auf das Minimum um 1.00 Uhr und dann zu einem gleichmäßigen Anstieg bis zum Morgen, jedoch wird auch hier der Ausgangswert nicht wieder erreicht.

Abbildung 3-38: Lymphozytenkurve der Nacht-Gruppe



Das Bild beim Vergleich der Lymphozytenkurve mit der Cortisolkurve ist in der Nacht-Gruppe wiederum ähnlich dem der Tag-Gruppe. Dem starken Anstieg des Cortisol steht auch hier ein Abfall der Lymphozyten entgegen der jedoch im Vergleich deutlich schwächer ausgeprägt ist. Dieser Abfall setzt sich auch fort, als das Cortisol von Anstieg zu Abfall übergeht, erst später kommt es dann zu einem Anstieg der Lymphozyten während die Cortisolkurve weiter fällt. Die einzelnen Werte zeigen ausser an der Kreuzungsstelle der Kurven in der Nacht deutliche Signifikanzen während dieses Verlaufes.

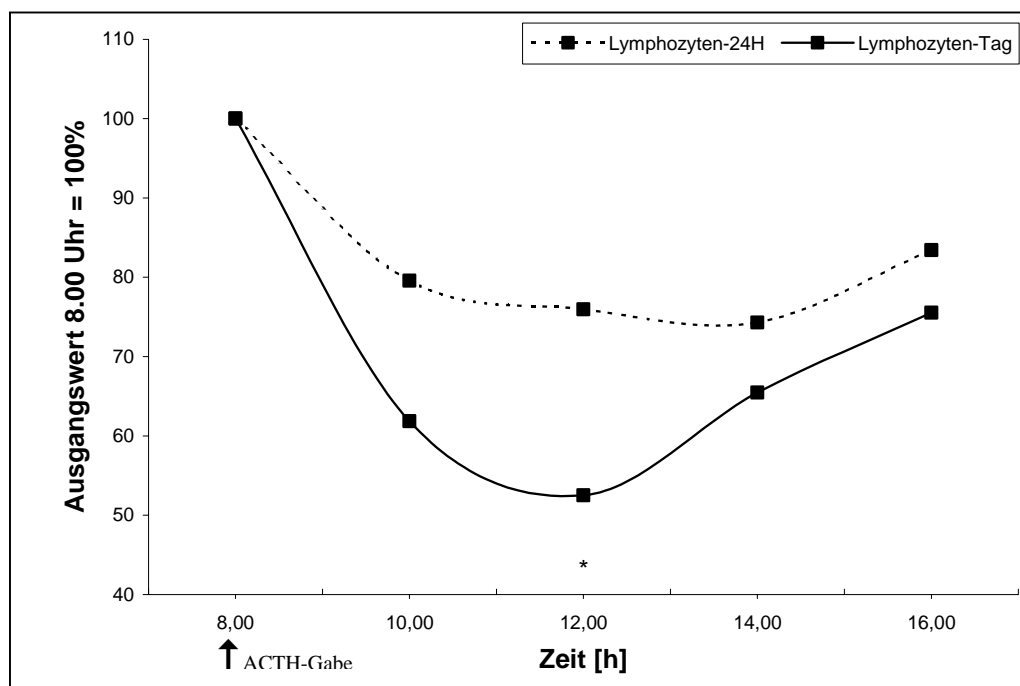
Abbildung 3-39: Vergleich der Cortisol- und Lymphozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%



3.5.4 Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe

Der direkte Vergleich der Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe zeigt bei der Tag-Gruppe einen stärkeren und länger andauernden Abfall der Werte nach der ACTH-Gabe. Es kommt im zweiten Teil des Kurvenverlaufes zu einem Anstieg beider Werte und zu einem parallelen Verlauf der Kurven mit einem geringeren Niveau der Tag-Gruppe aufgrund des stärkeren Abfalls zu Beginn. Der Einzelwert Vergleich mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergibt einen signifikanten Wert am Minimum der Tag-Gruppe, an dem die Werte am meisten differieren.

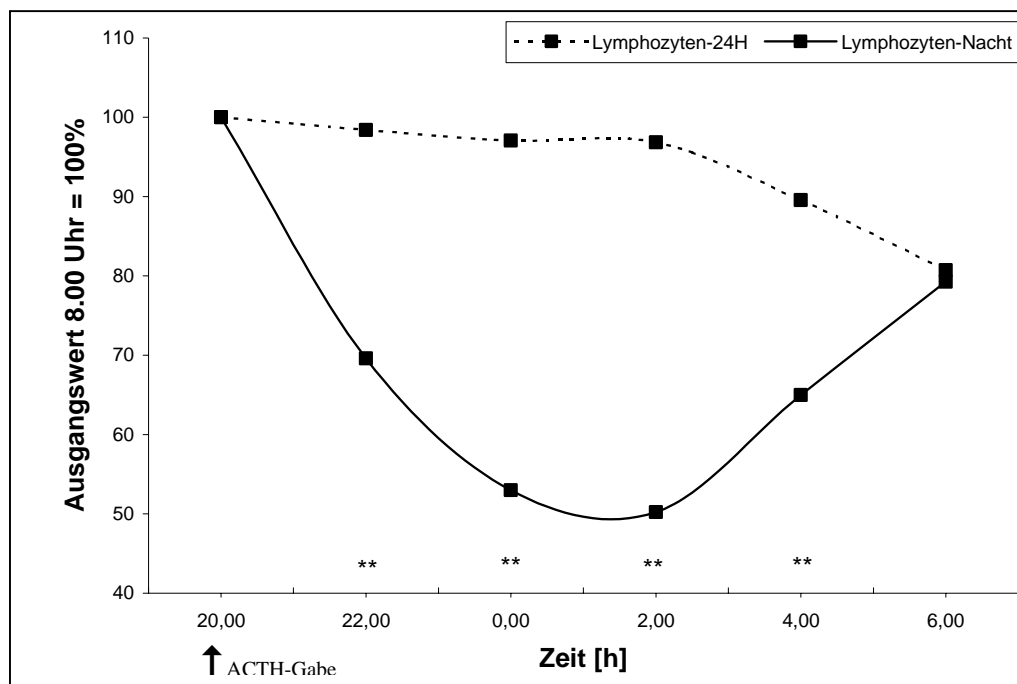
Abbildung 3-40: Vergleich der Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.5.5 Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe

Die graphische Darstellung der Verläufe der Nacht- und der 24-Stunden-Gruppe zeigt noch größere Differenzen der beiden Kurven als beim Vergleich zwischen Tag-Gruppe und 24h-Gruppe. Während die Lymphozyten der 24h-Gruppe zu Beginn nur gering und insgesamt ebenfalls nur um etwa 20% fallen, sieht man bei der Nacht-Gruppe einen starken Abfall mit anschließendem ebenso starkem Anstieg bis zum Morgen. Der Wert der 24h-Gruppe wird hier jedoch im Unterschied zum Vergleich bei der Tag-Gruppe erreicht. Die Einzelwerte sind entsprechend deutlich signifikant verschieden, was die Diskrepanz zwischen den bei den Verläufen statistisch unterstützt.

Abbildung 3-41: Vergleich der Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%

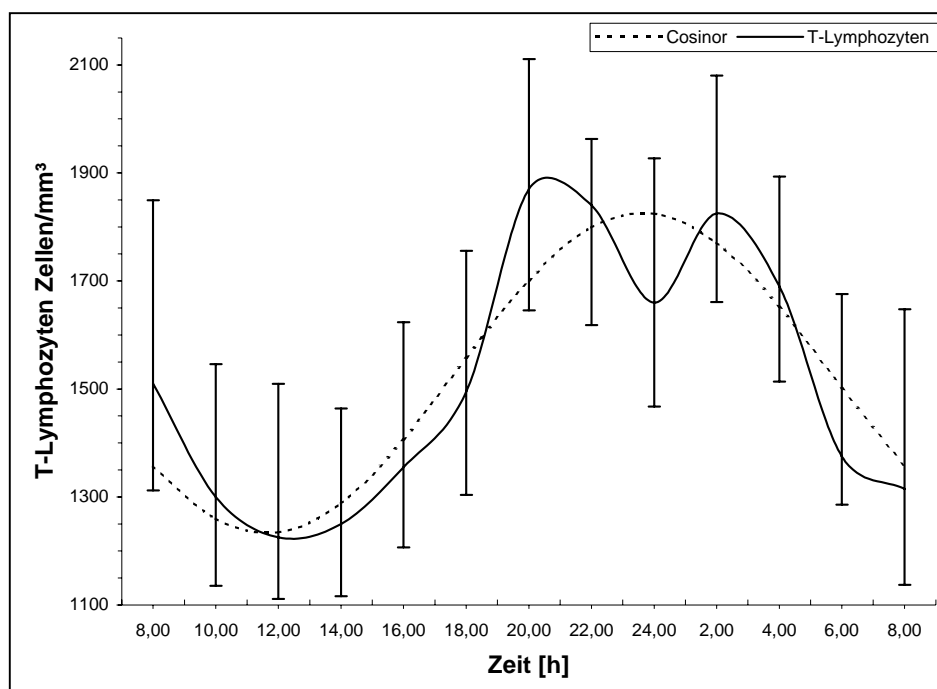


3.6 T-Lymphozyten

3.6.1 24h-Gruppe

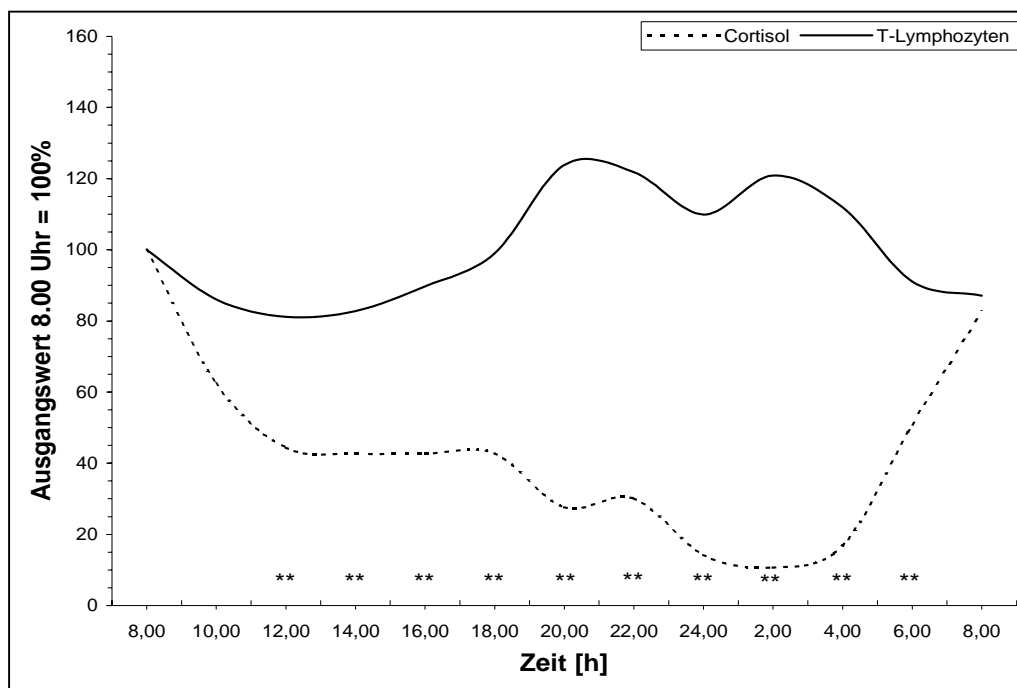
In den ersten vier Stunden kommt es bei den T-Lymphozyten zu einem Abfall um etwa 20%, danach zu einem steilen Anstieg bis zum Maximum um 20.00 Uhr. Der folgende Abfall zum Morgen wird nochmals unterbrochen von einem Anstieg zu einem lokalen Maximum um 2.00 Uhr. Die Cosinorkurve entspricht der beschriebenen Rhythmik mit Minimum um 12.00 Uhr und Maximum um 24.00 Uhr.

Abbildung 3-42: T-Lymphozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe



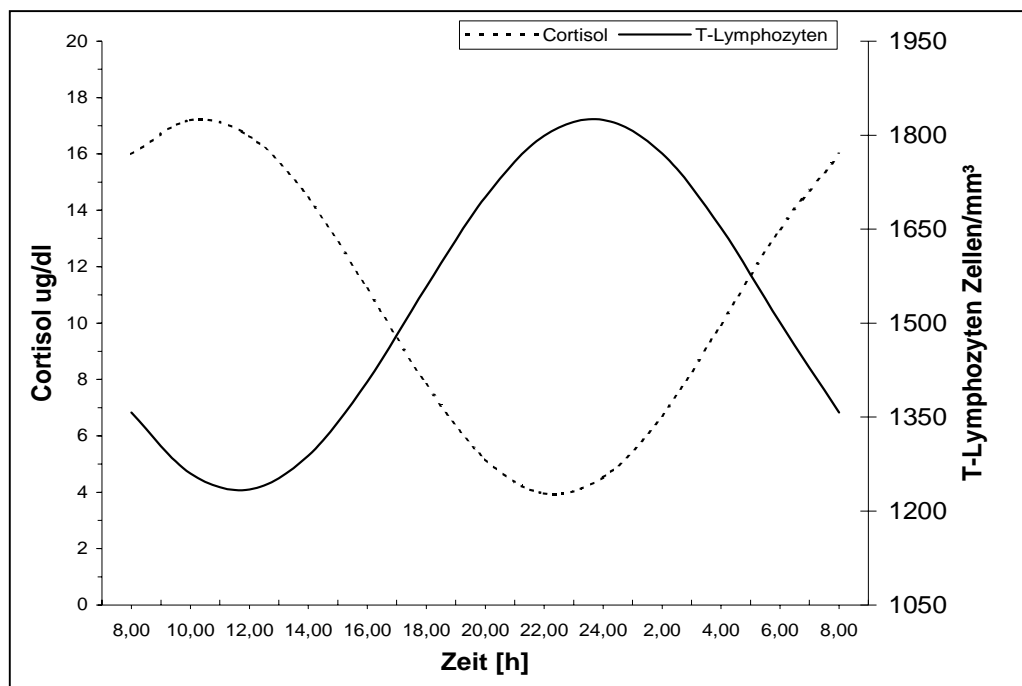
Der Vergleich der T-Lymphozytenkurve mit der Cortisolkurve zeigt eine leicht gegensätzlich laufende Rhythmik der T-Lymphozyten. Während die Cortisolwerte vom Morgen zur Nacht hin abfallen um dann wieder zu steigen, ist bei den T-Lymphozyten zwar auch, wie schon beschrieben zunächst ein Abfall feststellbar, dann folgt jedoch der lang gezogene Anstieg, während das Cortisol weiter fällt. Das Maximum der T-Lymphozyten liegt vor dem Minimum des Cortisol, so dass die T-Lymphozyten vor dem Anstieg des Cortisol schon beginnen zu fallen. Die Unterschiede der Einzelwerte zeigen sich während des gesamten Verlaufes durch signifikante Ergebnisse im Mann-Whitney-U-Test zwischen 12.00 Uhr und 6.00 Uhr.

Abbildung 3-43: Vergleich der Cortisol- und T-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%



Der direkte Vergleich der Cosinorkurven beider Parameter Cortisol und T-Lymphozyten zeigt die oben beschriebene Gegenläufigkeit der Kurven deutlich auf. Minima und Maxima der beiden Kurven liegen fast genau entgegengesetzt, wobei die T-Lymphozyten etwa ein bis zwei Stunden zum Cortisol zeitlich später versetzt sind.

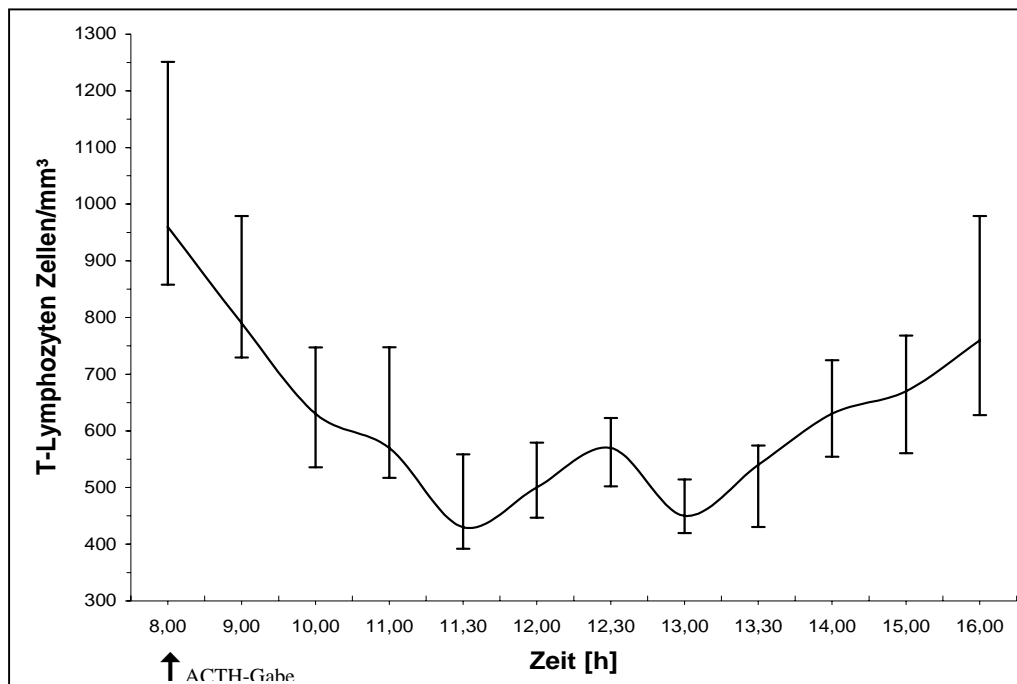
Abbildung 3-44: Vergleich der Cortisol und T-Lymphozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe



3.6.2 Tag-Gruppe

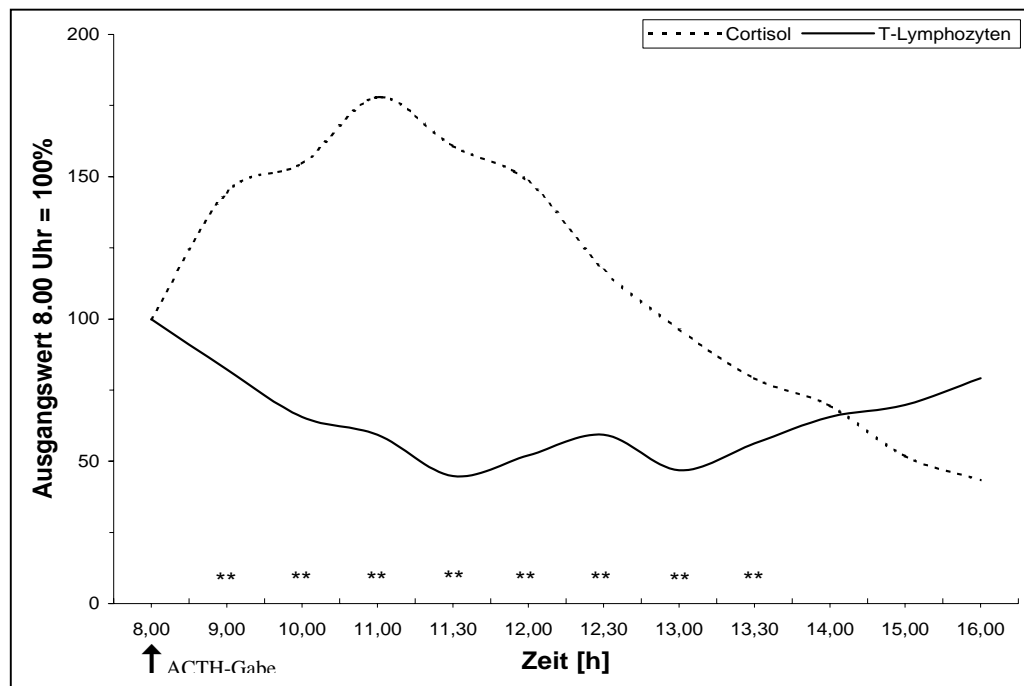
In der Tag-Gruppe zeigen die T-Lymphozyten einen deutlichen Abfall von ca. 55% über die ersten dreieinhalb Stunden. Nach einer Schwankung über die Mittagsstunden kommt es am Nachmittag zu einem Anstieg, wobei aber der Ausgangswert nicht mehr erreicht wird.

Abbildung 3-45: T-Lymphozytenkurve der Tag-Gruppe



T-Lymphozyten und Cortisol zeigen in der Tag-Gruppe ein unterschiedliches Verhalten. Bei starkem Anstieg des Cortisol fallen die T-Lymphozyten. Dieser Abfall setzt sich auch bei beginnendem Abfall des Cortisol fort. Erst am Nachmittag steigen die T-Lymphozyten mit einer Verzögerung der Umkehr zum Cortisol wieder an. Die statistische Untersuchung dieser Kurvenverläufe zeigt signifikante Werte fast während des ganzen Verlaufes, ausser an den Kreuzungsstellen der Kurven um 8.00 Uhr und ab 14.00 Uhr.

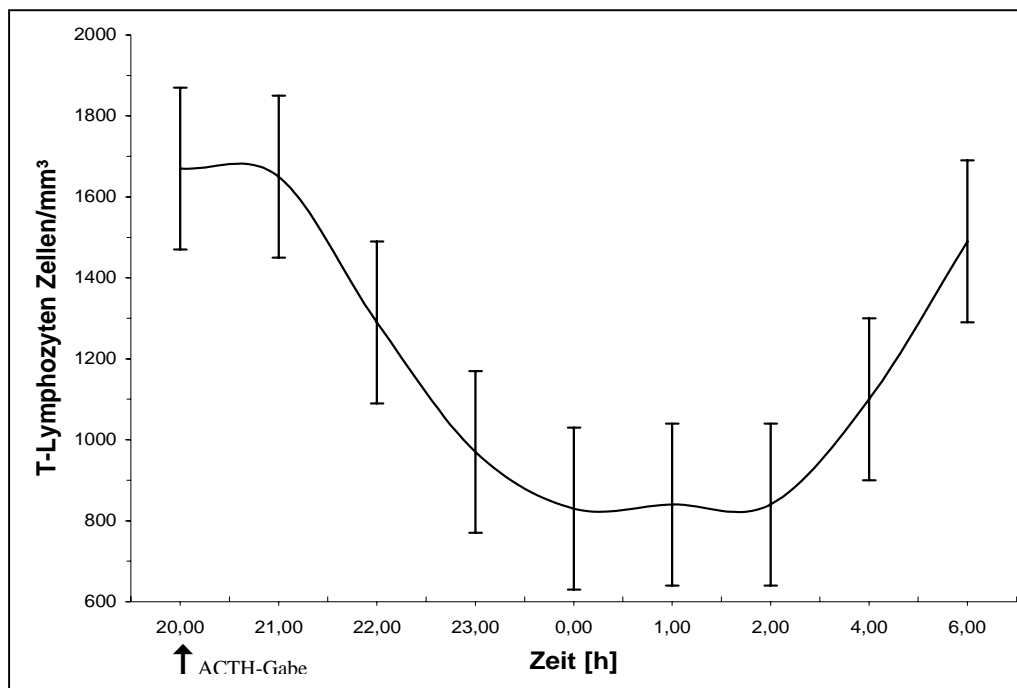
Abbildung 3-46: Vergleich der Cortisol- und T-Lymphozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.6.3 Nacht-Gruppe

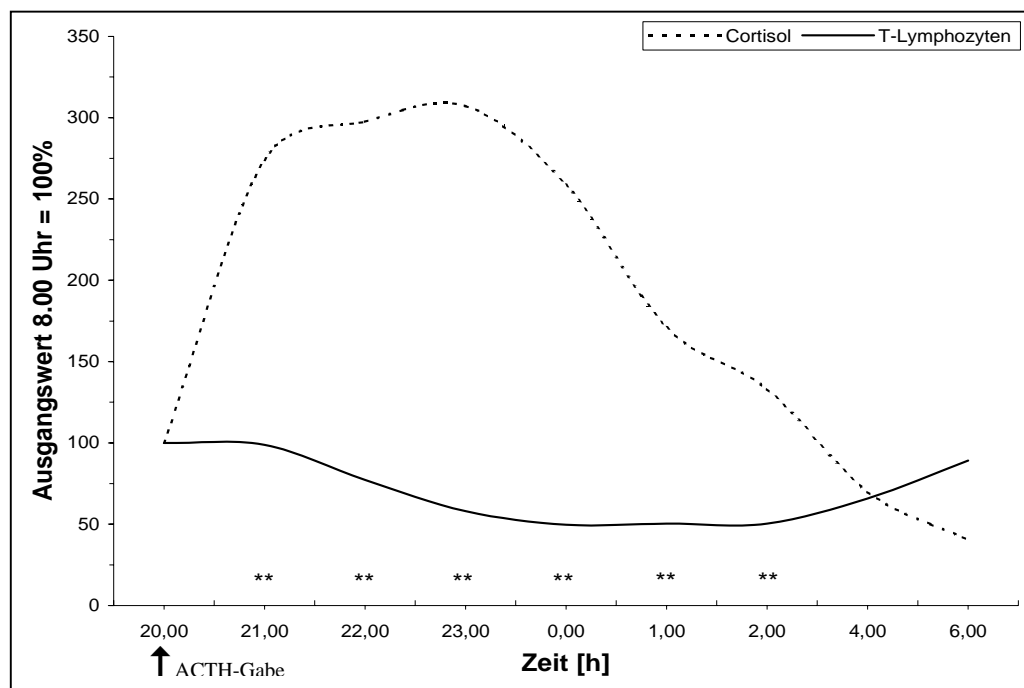
Nach kaum einer Veränderung in der ersten Stunde fallen die T-Lymphozyten der Nacht-Gruppe zwischen 21.00 Uhr und 0.00 Uhr auf etwa 50% vom Ausgangswert. Danach kommt es nach einer zweistündigen abgeflachten Phase zu einem kräftigen Anstieg, der den Ausgangswert aber nicht ganz wieder erreicht.

Abbildung 3-47: T-Lymphozytenkurve der Nacht-Gruppe



Der Vergleich von T-Lymphozyten und Cortisol zeigt bei starkem Anstieg des Cortisol zu Beginn kaum eine Veränderung bei den T-Lymphozyten. Nach einer Stunde kommt es dann aber bei den T-Lymphozyten zu einem deutlichen Abfall, während der Anstieg des Cortisol fort dauert. Das Maximum des Cortisol wird etwa 1eine Stunde vor dem Minimum der T-Lymphozyten erreicht. Bei beiden kommt es dann jeweils zum umgedrehten Kurvenverlauf, wobei dieser wiederum beim Cortisol stärker ausgeprägt ist und ebenfalls bei den T-Lymphozyten das Minimum plateauartig ausgeprägt ist bevor es zum erneuten Anstieg kommt. In der statistischen Analyse wird dieser unterschiedliche Kurvenverlauf durch signifikante Werte im Mittelbereich bestätigt.

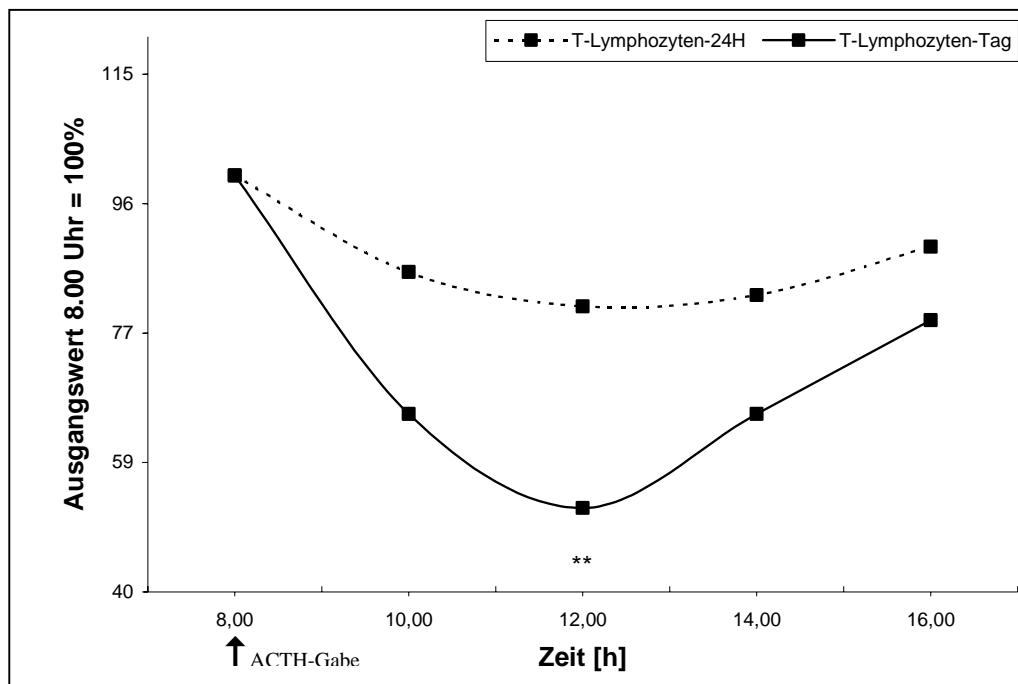
Abbildung 3-48: Vergleich der Cortisol- und T-Lymphozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%



3.6.4 Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe

Der direkte Vergleich der gleichen Uhrzeiten entsprechenden Werte zeigt einen stärkeren Abfall der Werte in der Tag-Gruppe. Der sich anschließende Anstieg der T-Lymphozyten ist ebenfalls in der Tag-Gruppe stärker ausgeprägt als in der 24h-Gruppe, so dass sich die Werte wieder einander annähern. Im letzten Bereich des Kurvenverlaufes kommt es daher zu einem fast parallelen Verlauf bei niedrigerem Niveau der T-Lymphozyten. Der Einzelwert Vergleich mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergibt einen signifikanten Wert zum Zeitpunkt des größten Abstandes der Kurven um 12.00 Uhr.

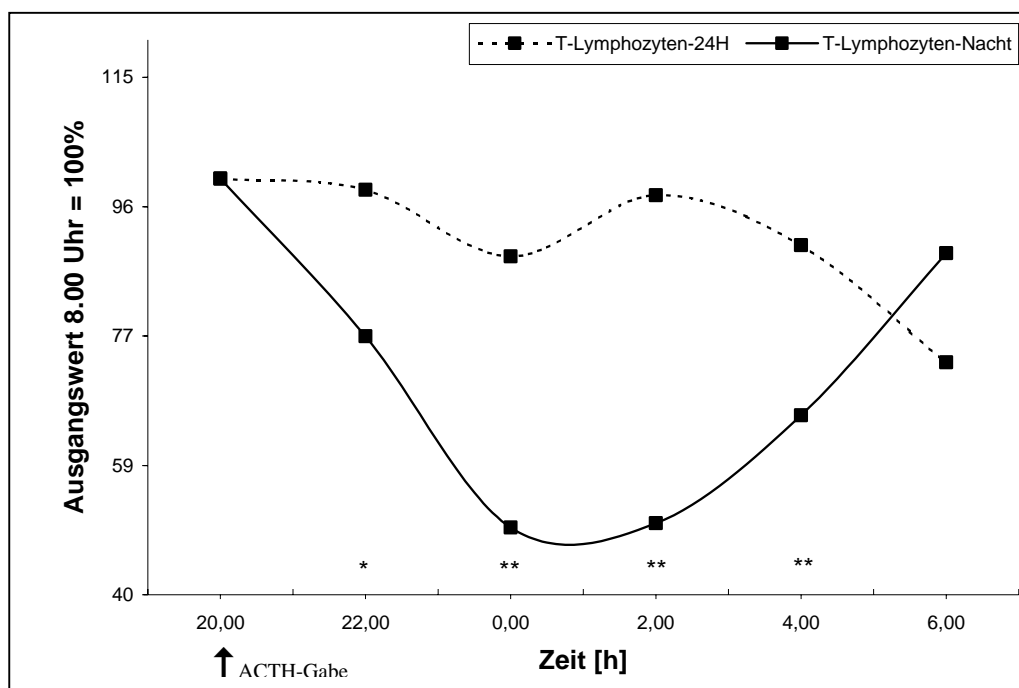
Abbildung 3-49: Vergleich der T-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.6.5 Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe

In der Nacht-Gruppe findet man in der ersten Nachthälfte den stärkeren Abfall der Werte bei den T-Lymphozyten. Aufgrund des sich anschließenden fast ebenso großen Anstieges der Werte und eines Abfalls der Werte der 24-Stunden-Gruppe kommt es sogar zum durchkreuzen der Kurven. Die Einzelwerte sind ausser zu Beginn und am Ende der Messungen voneinander signifikant verschieden wodurch die Verschiedenheit der Kurvenverläufe belegt wird.

Abbildung 3-50: Vergleich der T-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%

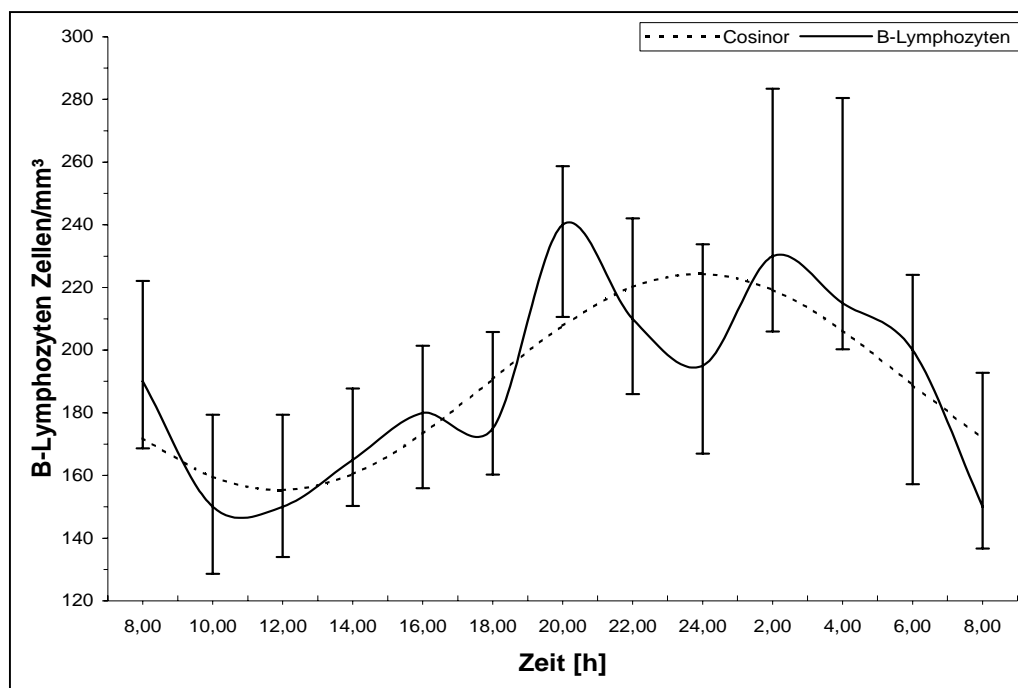


3.7 B-Lymphozyten

3.7.1 24h-Gruppe

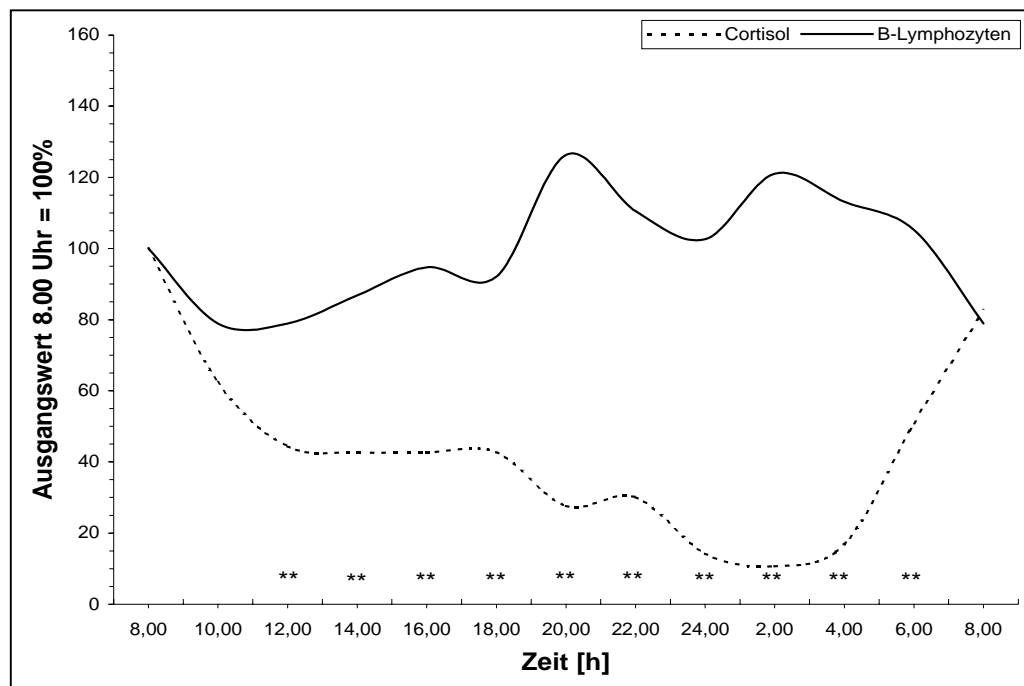
Die B-Lymphozyten fallen am Vormittag ab und erreichen ihr Minimum zwischen 10.00 Uhr und 12.00 Uhr (gleiche Messwerte zu diesen Zeiten) und ihr Maximum nach schwankendem Anstieg um 20.00 Uhr. Danach fallen sie zunächst wieder ab um, nach einem lokalen Maximum um 2.00 Uhr, zum Morgen weiter abzufallen. Dieser Verlauf wird durch die Cosinor-Funktion gut dargestellt mit Minimum um 12.00 Uhr und Maximum um 24.00 Uhr.

Abbildung 3-51: B-Lymphozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe



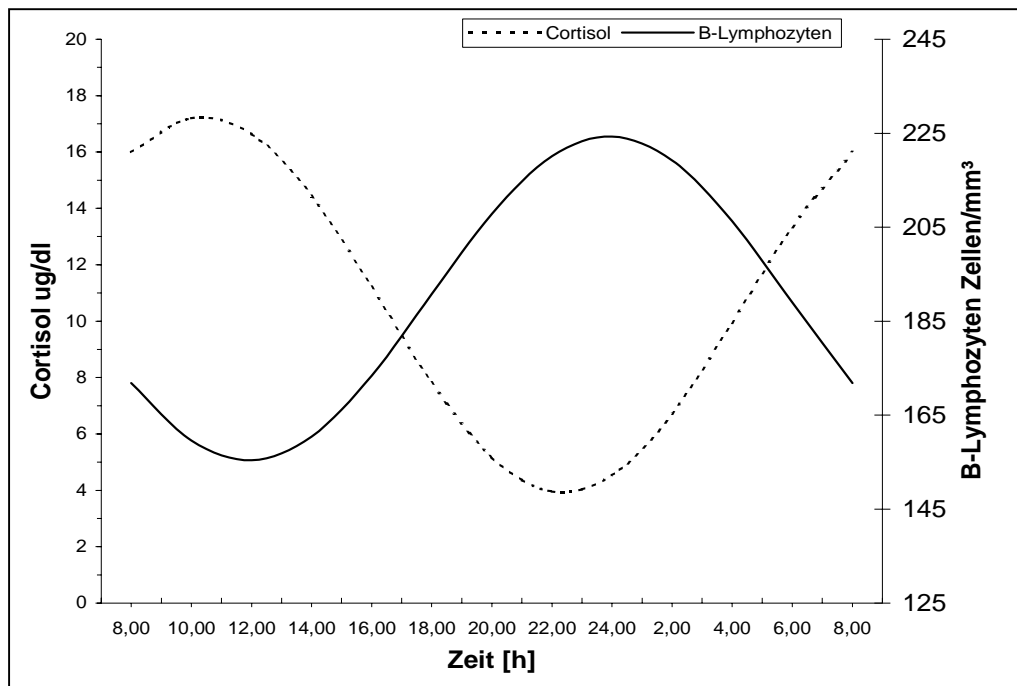
Beim Vergleich der B-Lymphozyten mit dem Cortisol zeigt sich bei beiden zunächst ein Abfall am Morgen, der jedoch bei den B-Lymphozyten nur zwei Stunden andauert, beim Cortisol bis in die frühen Morgenstunden reicht. Der langgezogene Anstieg der B-Lymphozyten führt zu Maximalwerten (unterbrochen durch eine Abwärtsschwankung), wenn das Cortisol seine tiefsten Werte erreicht. Die Einzelmessungen zeigen signifikante Unterschiede in der statistischen Überprüfung mit dem Mann-Whitney-U-Test während der gesamten Mittelphase des Kurvenverlaufes.

Abbildung 3-52: Vergleich der Cortisol- und B-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%



Die Cosinorkurven von Cortisol und B-Lymphozyten zeigen gegeneinander dargestellt die Gegenläufigkeit der Rhythmik beider Parameter noch besser auf. Minima und Maxima der beiden Kurven liegen wie bei den T-Lymphozyten fast genau entgegengesetzt, wobei die B-Lymphozyten etwa zwei Stunden im Vergleich zum Cortisol zu späteren Zeiten versetzt sind.

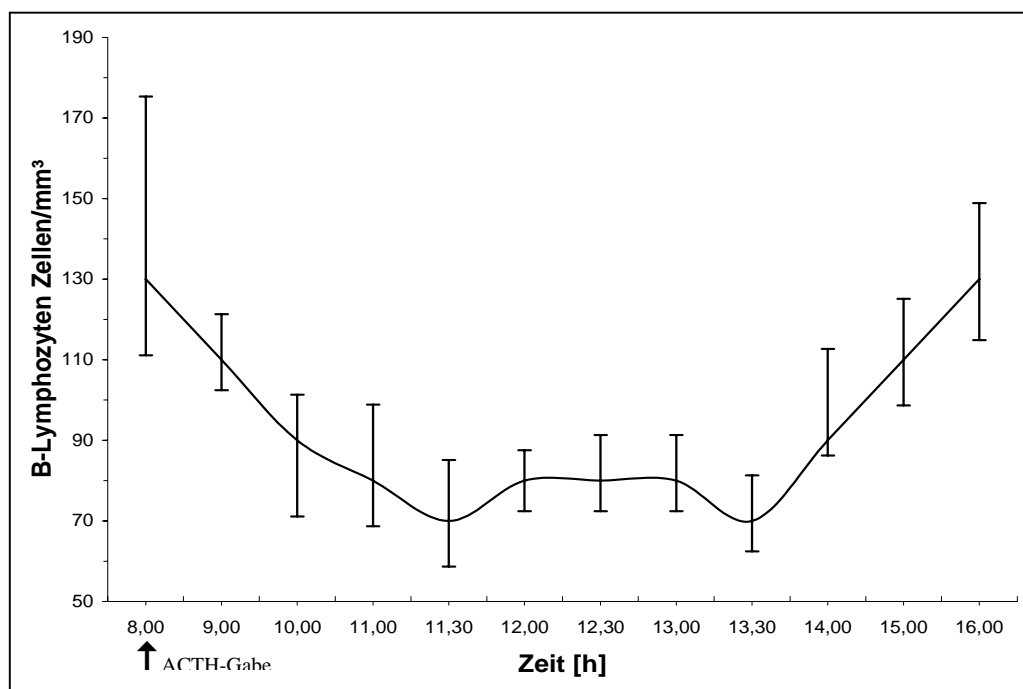
Abbildung 3-53: Vergleich der Cortisol und B-Lymphozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe



3.7.2 Tag-Gruppe

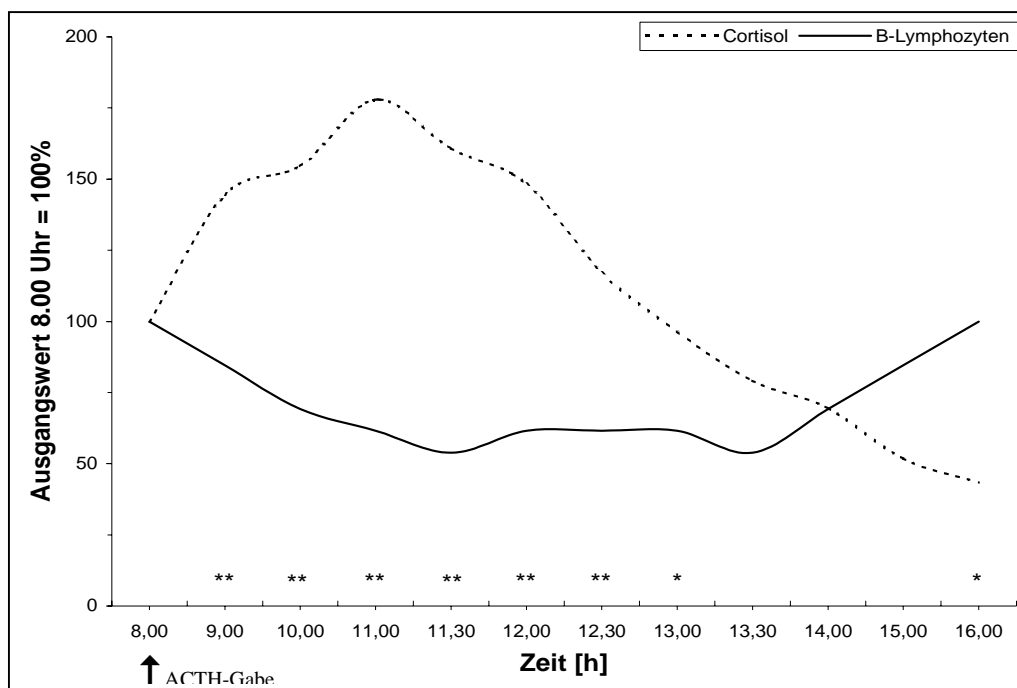
Die B-Lymphozyten fallen kontinuierlich in den ersten zweieinhalb Stunden auf fast 50% des Ausgangswertes ab. Nach einem kleinen Anstieg, einer plateauartigen Phase von einer Stunde und einem weiteren kurzen Abfall zu einem zweiten Minimum kommt es gegen Ende der Messungen wieder zu einem Anstieg. Bei der Tag Gruppe wird hierbei der Ausgangswert wieder erreicht was insgesamt zu einem fast symmetrischen Kurvenverlauf führt.

Abbildung 3-54: B-Lymphozytenkurve der Tag-Gruppe



Der Vergleich der B-Lymphozyten- mit der Cortisolkurve zeigt einen fast komplett gegensätzlichen Verlauf. Der Anstieg des Cortisol wird von einem Abfall der B-Lymphozyten begleitet. Kurz nach Erreichen des Maximum der Cortisolwerte kommt es auch bei den B-Lymphozyten nicht zu einem weiteren Abfall und das Absinken der Cortisolwerte wird, nach einer gewissen Verzögerung, von einem Anstieg der Werte der B-Lymphozyten gefolgt und es kommt zu einem relativen Überkreuzen der beiden Kurven. Die statistische Untersuchung dieser Kurvenverläufe zeigt bei den einzelnen Werten Signifikanzen am Vormittag und am Nachmittag zu den Zeiten der deutlichsten Kurvendifferenzen.

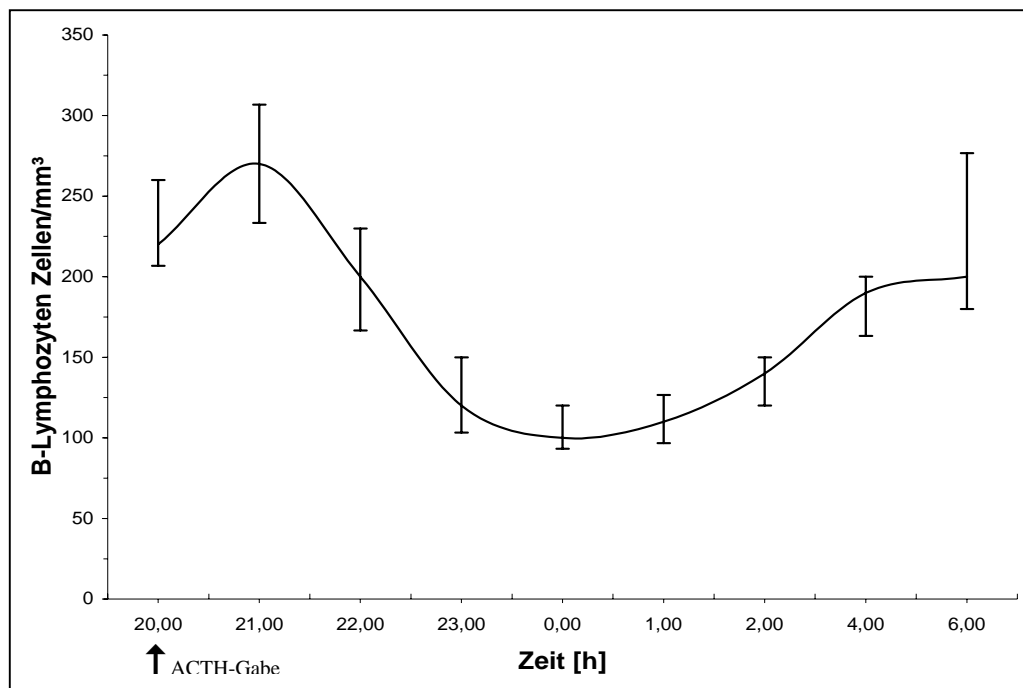
Abbildung 3-55: Vergleich der Cortisol- und B-Lymphozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.7.3 Nacht-Gruppe

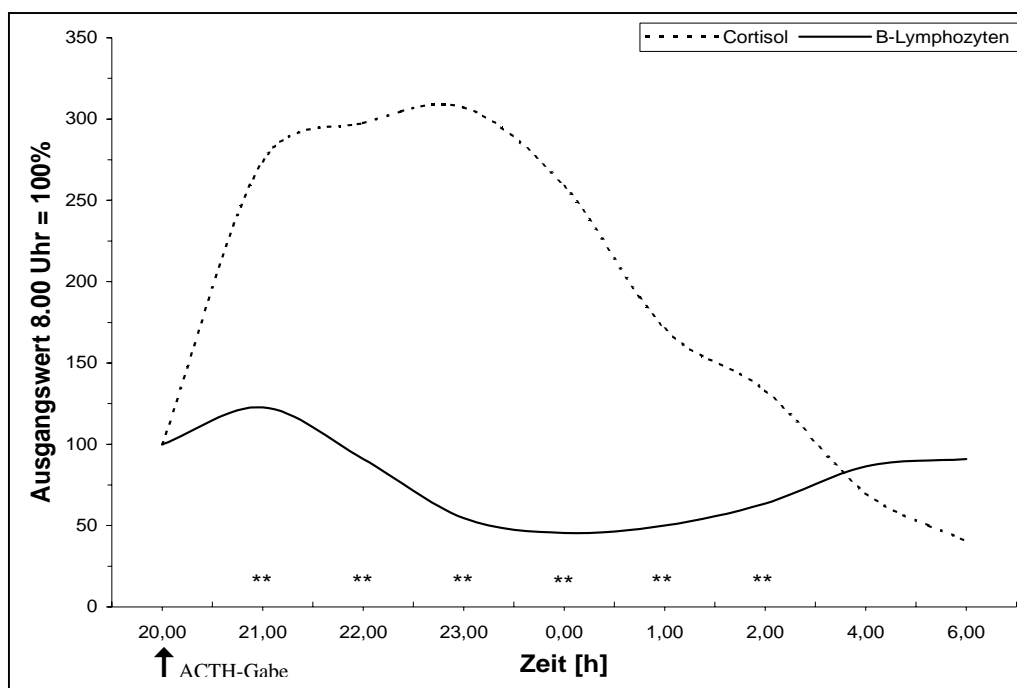
Hier ist im Gegensatz zur Tag-Gruppe zuerst ein Anstieg innerhalb der ersten Stunde um fast 25% vom Ausgangswert festzustellen, auf den ein starker Abfall auf etwa 45% des Ausgangswertes folgt. Der anschließende Anstieg zum Morgen ist deutlich ausgeprägt, erreicht aber nicht wieder den Ausgangswert.

Abbildung 3-56: B-Lymphozytenkurve der Nacht-Gruppe



Das Bild beim Vergleich der B-Lymphozytenkurve mit der Cortisolkurve bietet in der ersten Stunde einen Anstieg beider Parameter. Danach kommt es jedoch zum eher gegensätzlichen Verlauf mit Abfall der B-Lymphozyten und weiterem Anstieg des Cortisol zu Maximalwerten. Kurz nach Erreichen dieser Maximalwerte und beginnendem Abfall kommt es auch bei den B-Lymphozyten zur Umkehr vom Abfall zum Anstieg, wobei dies weniger deutlich ausgeprägt ist. Wie auch schon bei der Tag-Gruppe kommt es zu einem Überkreuzen der Kurven aufgrund der gegensätzlichen Verlaufsrichtung. Entsprechend liefert die statistische Untersuchung der einzelnen Werten ausser an der Kreuzungsstelle der Kurven deutliche Signifikanzen während des Kurvenverlaufes, was die Unterschiedlichkeit unterstreicht.

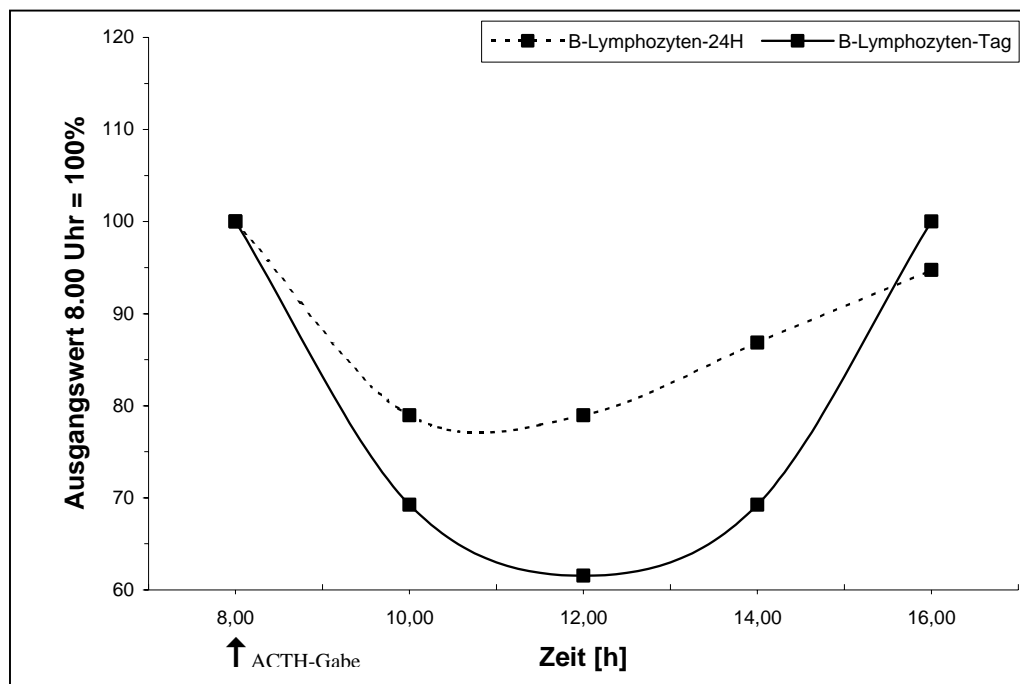
Abbildung 3-57: Vergleich der Cortisol- und B-Lymphozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%



3.7.4 Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe

Der direkte Vergleich der B-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe zeigt bei der Tag-Gruppe einen etwas stärkeren, vor allem aber länger andauernden Abfall der Werte nach der ACTH-Gabe. Der anschließende ebenfalls stärkere Anstieg der Tag-Gruppe führt die Werte wieder auf gleiches Niveau zurück. Der Einzelwert Vergleich mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests zeigt ebenfalls keine signifikanten Werte.

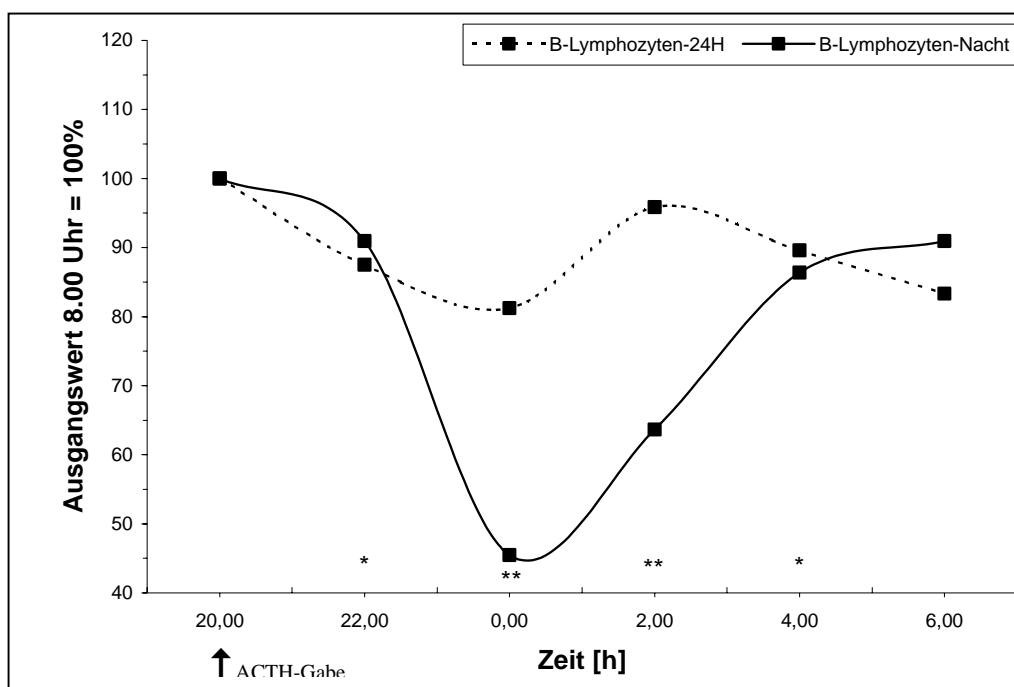
Abbildung 3-58: Vergleich der B-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.7.5 Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe

Die graphische Darstellung zeigt hier große Differenzen der beiden Kurven. Während die B-Lymphozyten der 24h-Gruppe nur gering fallen und ihr Niveau insgesamt wenig verändern, sieht man bei der Nacht-Gruppe einen starken Abfall mit anschließendem ebenso starkem Anstieg bis zum Morgen, wo die Werte der 24h-Gruppe wieder erreicht werden. Die Einzelwerte sind entsprechend während fast des ganzen Verlaufes signifikant verschieden.

Abbildung 3-59: Vergleich der B-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%

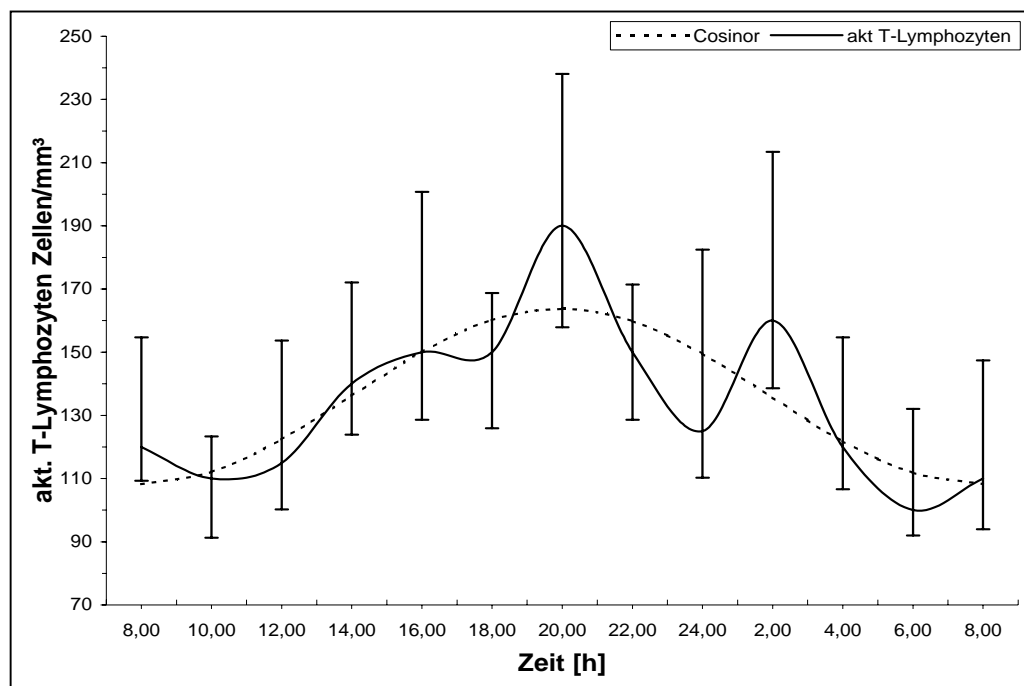


3.8 Aktivierte T-Lymphozyten

3.8.1 24h-Gruppe

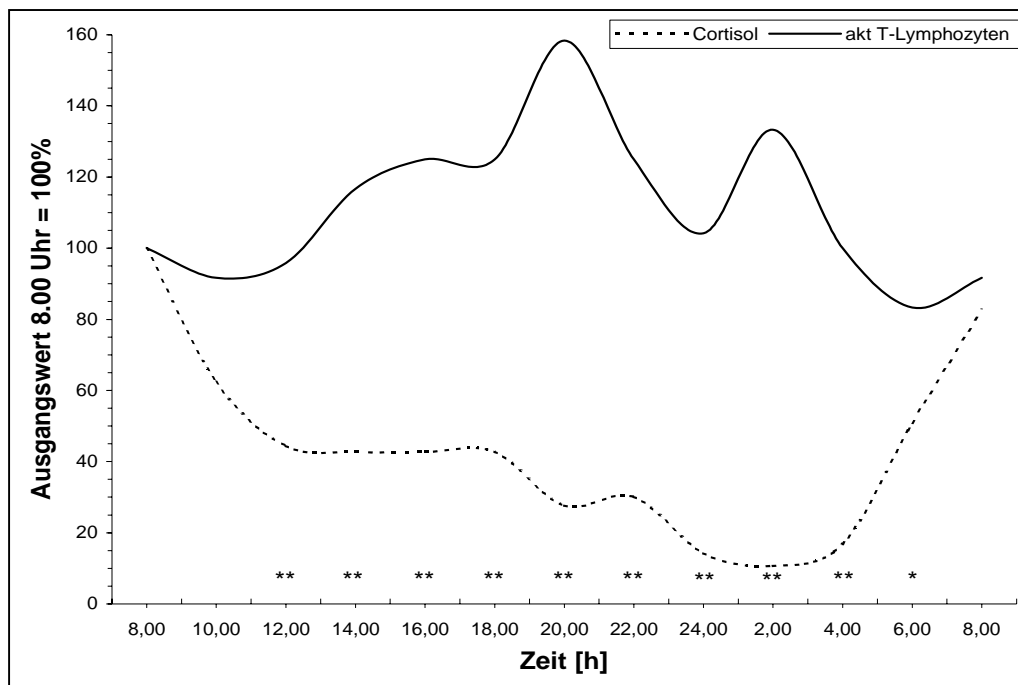
In den ersten zwei Stunden kommt es bei den aktivierten T-Lymphozyten zu einem leichten Abfall, danach zu einem Anstieg bis zum Maximum gegen 20.00 Uhr. Es folgt der Abfall zu morgendlichen tieferen Werten, jedoch ist der gesamte Tagesverlauf von Schwankungen unterbrochen. Eine genaue Periodik ist bei den Schwankungen nicht einfach auszumachen, liegt jedoch am Nachmittag bei einem sechsständigen Intervall. Die Cosinorkurve entspricht der beschriebenen Rhythmik mit Minimum um 8.00 Uhr und Maximum um 20.00 Uhr.

Abbildung 3-60: Aktivierte T-Lymphozyten- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe



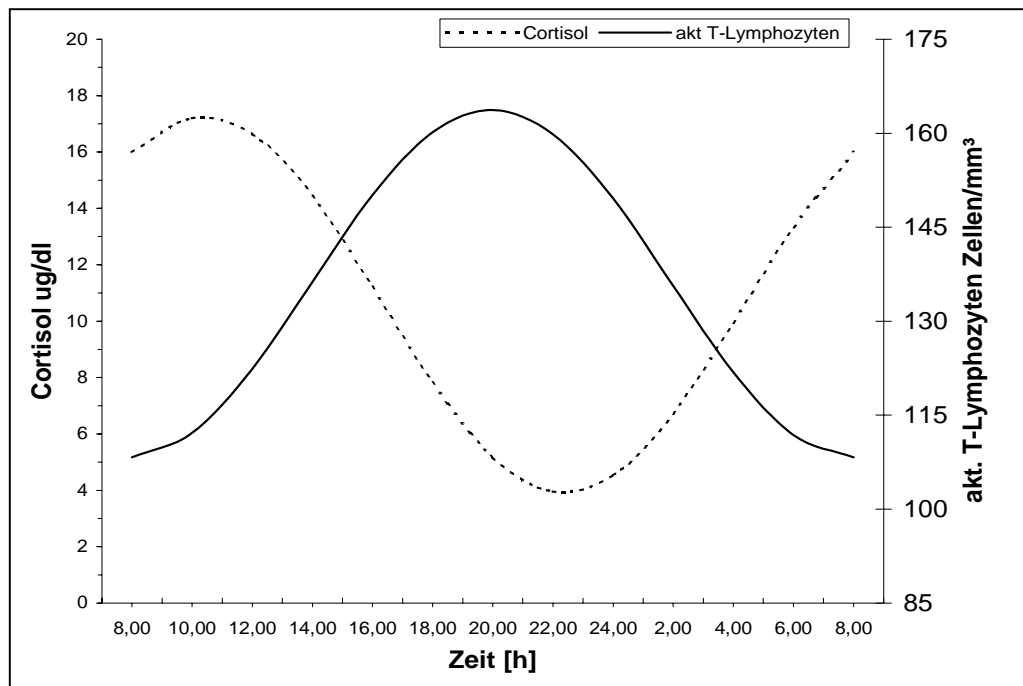
Wie schon bei anderen Vergleichen beschrieben findet sich ein fast gegensätzlicher Verlauf des Cortisol und der aktivierten T-Lymphozyten. Nur der Abfall am Anfang läuft hier gleichgerichtet, danach ist der Kurvenverlauf jedoch unterschiedlich mit Anstieg der aktivierten T-Lymphozyten und Abfall des Cortisol, im weiteren Verlauf dann Anstieg des Cortisol bei Abfall der Werte der aktivierten T-Lymphozyten. Nur ganz zum Schluss der Messungen kommt es wieder zu einem kurzen fast parallelen Kurvenverlauf wenn beide Parameter ansteigen. Unterschiede der Einzelwerte in der statistischen Untersuchung zeigen sich infolge dessen praktisch während des gesamten Verlaufes. Nur zu Beginn und am Ende, in den Bereichen in denen sich die Kurven entsprechen, kommen keine Signifikanzen zustande.

Abbildung 3-61: Vergleich der Cortisol- und aktivierten T-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%



Auch der direkte Vergleich der Cosinorkurven beider Parameter zeigt die Entgegensätzlichkeit beider Kurvenverläufe. Bei den aktivierten T-Lymphozyten ist jedoch das Maximum etwa zwei Stunden vor dem Minimum des Cortisol anzutreffen und nicht wie bei den vorherigen Kurven danach.

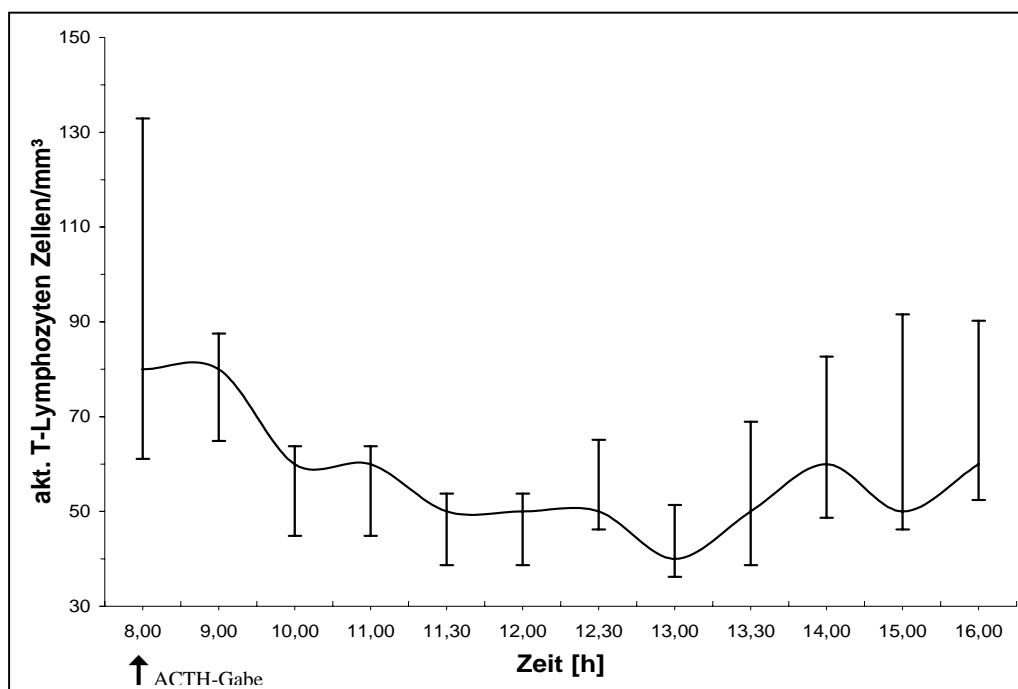
Abbildung 3-62: Vergleich der Cortisol und aktivierten T-Lymphozyten Cosinorkurven der 24h-Gruppe



3.8.2 Tag-Gruppe

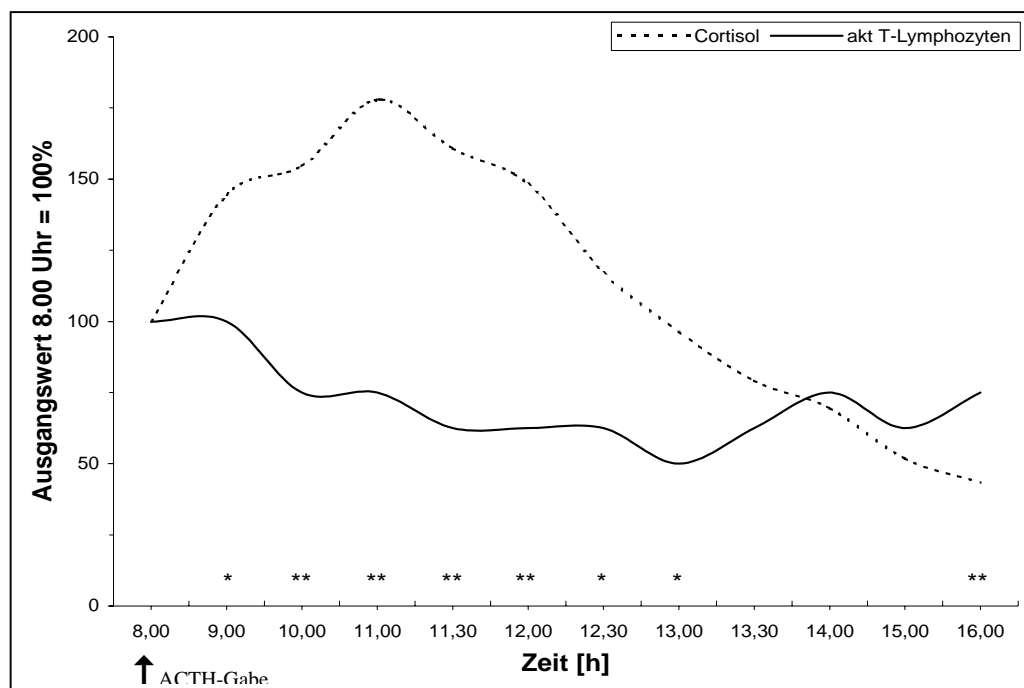
In der Tag-Gruppe zeigen die aktivierten T-Lymphozyten einen schwankenden Verlauf mit zunächst geringer Reaktion in den ersten Stunden und dann Abfall von ca. 25% in der nächsten Stunde und Abfall auf insgesamt 50% des Ausgangswertes um 13.00 Uhr. Auch der folgende Anstieg am Nachmittag ist von den gleichen Schwankungen gekennzeichnet. Der Ausgangswert vom Morgen wird nicht wieder erreicht und es lässt sich keine klare Periodik der Schwankungen erkennen.

Abbildung 3-63: Aktivierte T-Lymphozytenkurve der Tag-Gruppe



Im Vergleich zum Cortisol zeigt sich bei starkem Anstieg des Cortisol der Abfall der aktivierten T-Lymphozyten zeitlich etwas versetzt und deutlich schwächer ausgeprägt. Bei Maximum des Cortisol fallen die aktivierten T-Lymphozyten weiter und erreichen ihr Minimum erst während des Abfallens der Cortisolwerte. Der anschließende Anstieg der Werte der aktivierten T-Lymphozyten bei weiterem Abfall des Cortisol führt zum relativen Überschneiden der Kurven. Die statistische Untersuchung dieser Kurvenverläufe zeigt signifikante Werte zwischen 9.00 Uhr und 13.00 Uhr und um 16.00 Uhr, also in den Bereichen in denen die Kurven am meistens konträr verlaufen.

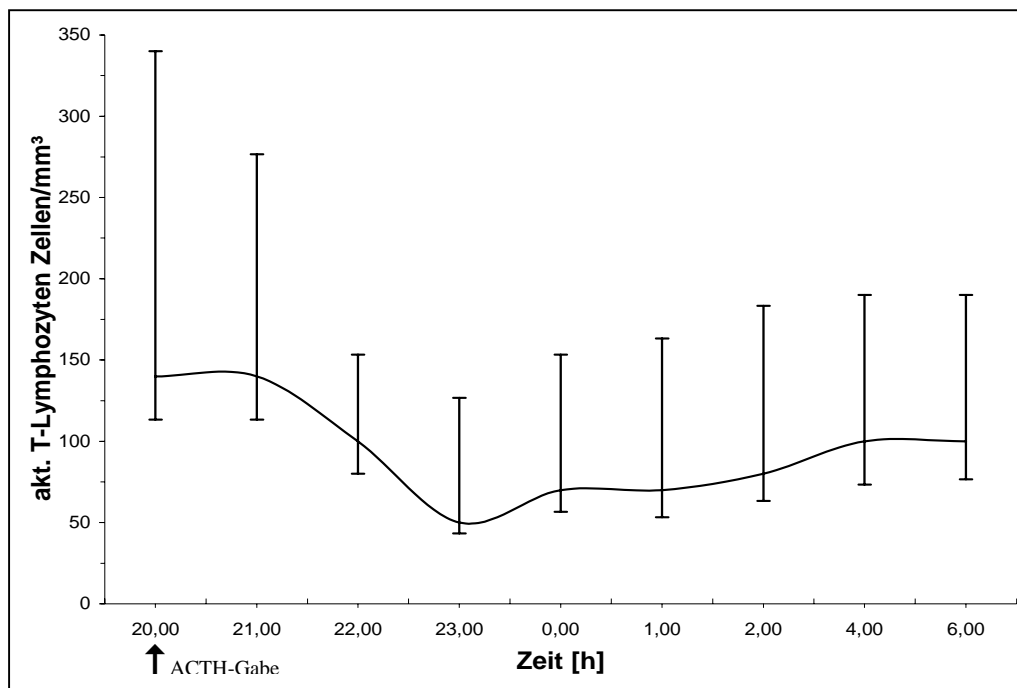
Abbildung 3-64: Vergleich der Cortisol- und aktivierten T-Lymphozytenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.8.3 Nacht-Gruppe

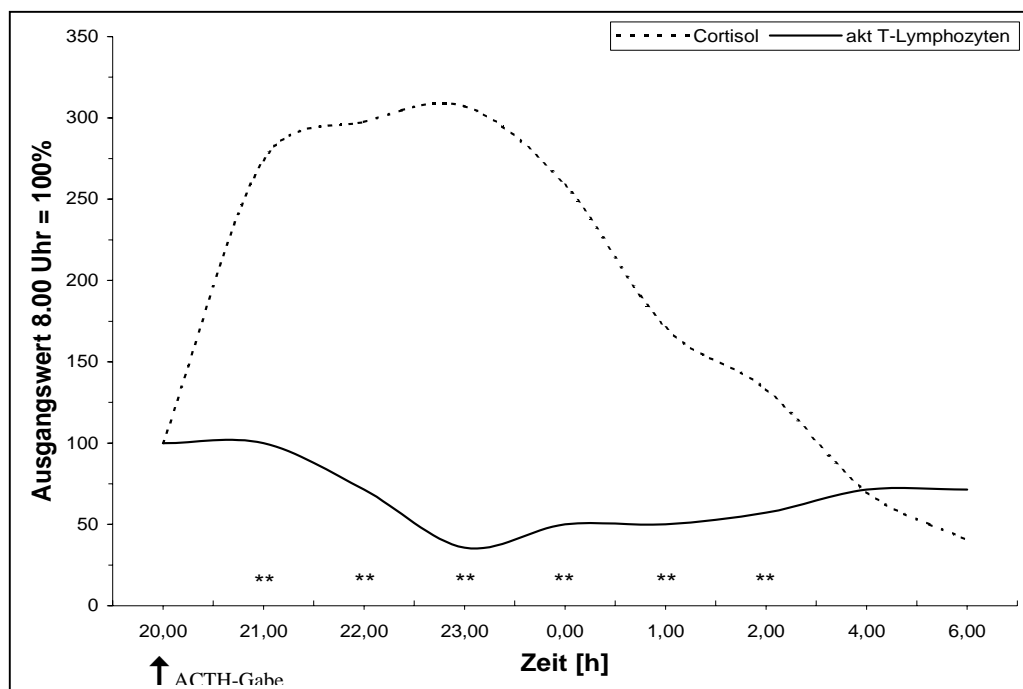
Der Verlauf der Nacht-Gruppe ist sehr gleichmäßig ohne größere Schwankungen. Nach kaum einer Veränderung in der ersten Stunde folgt ein deutlicher Abfall in den nächsten zwei Stunden um ca. 65% und das Erreichen des Minimums bei 23.00 Uhr. Anschließend zeigt sich ein sehr geringer Anstieg ohne Erreichen des Ausgangswertes.

Abbildung 3-65: Aktivierte T-Lymphozytenkurve der Nacht-Gruppe



Im direkten Vergleich mit Cortisol werden Anstieg, Maximum und Abfall des Cortisol jeweils entgegengesetzt begleitet durch Abfall, Minimum und Anstieg der aktivierten T-Lymphozyten. Insgesamt fällt jedoch die geringere Variabilität der Werte bei den aktivierten T-Lymphozyten im Vergleich zum Cortisol auf. Es ergeben sich signifikante Werte im Vergleich der Einzelmessungen während des Mittelbereiches der Messungen, wo die Kurven weit auseinanderdriften.

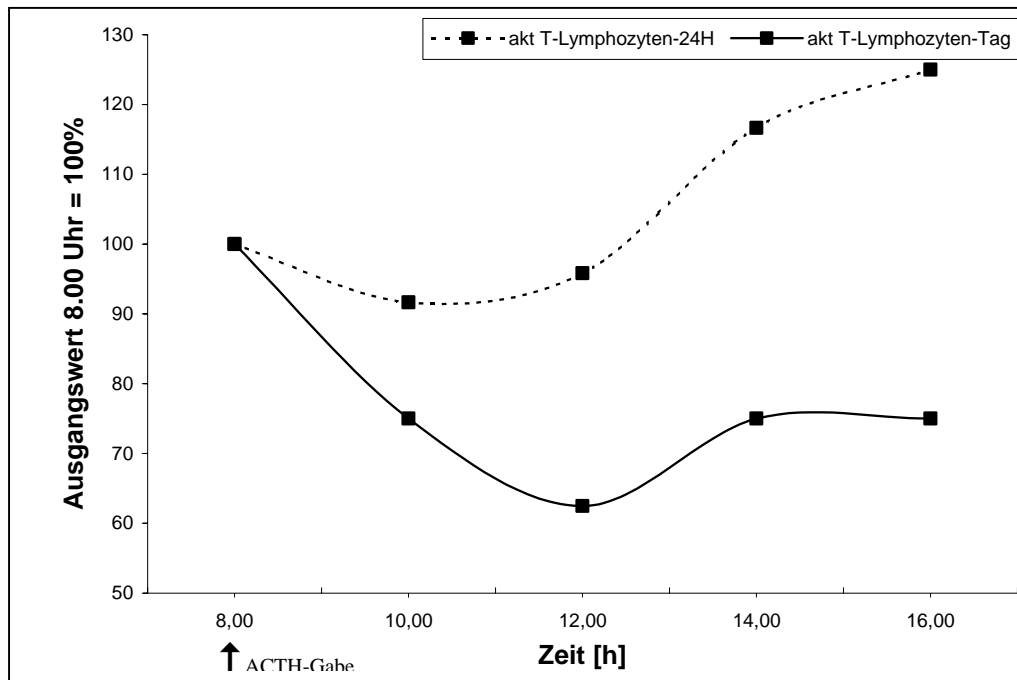
Abbildung 3-66: Vergleich der Cortisol- und aktivierten T-Lymphozytenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%



3.8.4 Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe

Der direkte Vergleich der 24-Stunden-Gruppe und der Tag-Gruppe zeigt einen stark unterschiedlichen Verlauf der Kurven, der sich auch im Weiteren nicht mehr aneinander angleicht. Der Abfall der 24h-Gruppe in den ersten beiden Stunden wird von einem wesentlich stärkeren Abfall der Tag-Gruppe begleitet. Der weitere Abfall in der Tag-Gruppe findet statt während die Werte der 24h-Gruppe schon steigen. Dann kommt es zu einem gleichzeitigen Anstieg der Werte beider Gruppen, dieses ist jedoch bei der Tag-Gruppe wieder abgeschwächer vorhanden wodurch sich die Werte nicht wieder einander annähern. Der Einzelwert Vergleich mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergibt keine signifikanten Werte.

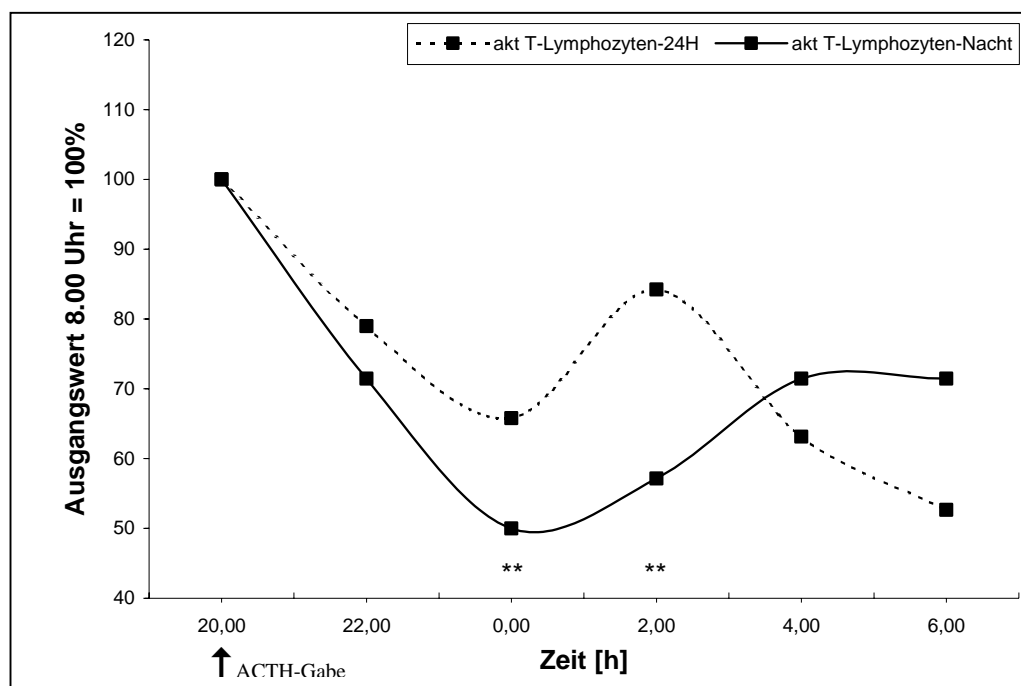
Abbildung 3-67: Vergleich der aktivierten T-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.8.5 Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe

In der Nacht-Gruppe findet man in der ersten Nachthälfte den stärkeren Abfall der Werte. Aufgrund des sich anschließenden länger andauernden Anstieges der Werte und eines weiteren Abfalls der Werte der 24-Stunden-Gruppe nach einem zwischenzeitlichen Anstieg kommt es sogar zum Vertauschen der Niveaulage der Kurven. Die Einzelwerte sind im mittleren Bereich des Vergleiches um 0.00 Uhr und 2.00 Uhr signifikant voneinander verschieden.

Abbildung 3-68: Vergleich der aktivierten T-Lymphozytenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%

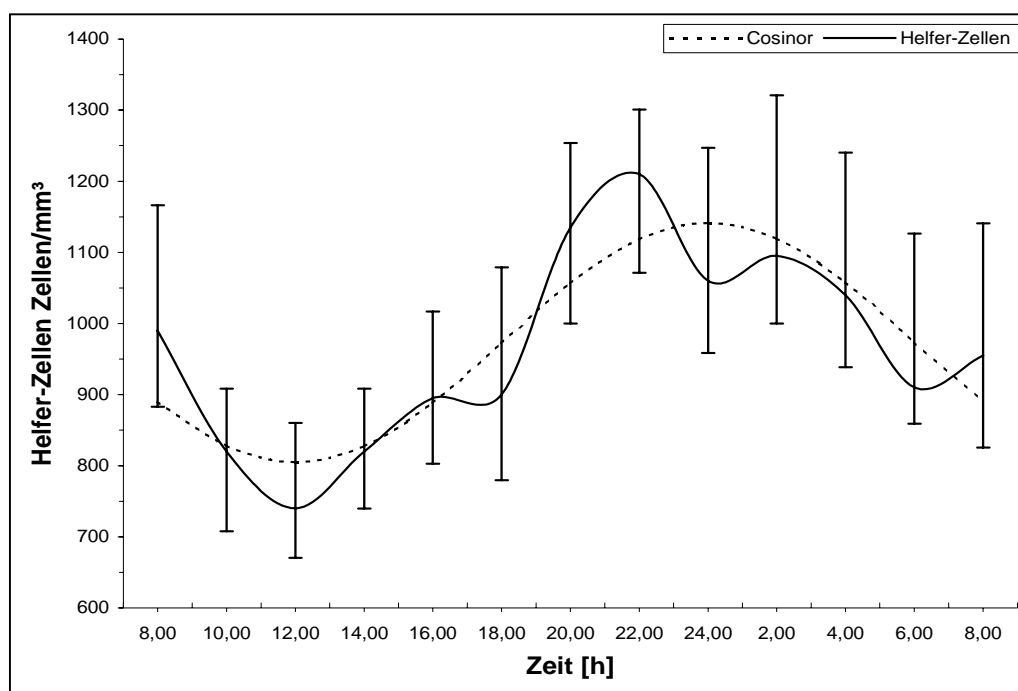


3.9 Helfer-Zellen

3.9.1 24h-Gruppe

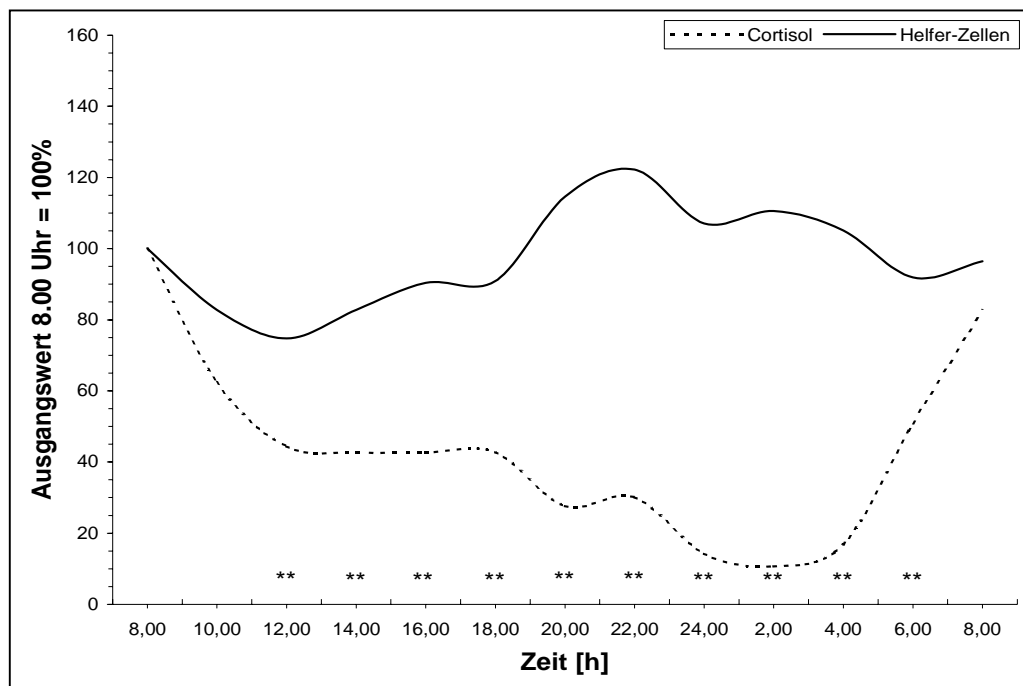
Bei den Helfer-Zellen kommt es am Vormittag zu einem Abfall von etwa 30% bis zum Minimum bei 12.00 Uhr, danach zu einem kräftigen Anstieg auf ca. 25% oberhalb des Ausgangswertes beim Maximum gegen 22.00 Uhr. Darauf folgt der Abfall zum Morgen auf das Ausgangsniveau. Der Tagesverlauf der Helfer-Zellen ist wie schon bei anderen Zellen durch Schwankungen geprägt die im Abstand von vier bis sechs Stunden auftreten. Die Cosinorkurve bildet die vorhandene Rhythmik gut ab mit Minimum um 12.00 Uhr und Maximum um Mitternacht.

Abbildung 3-69: Helfer-Zellen- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe



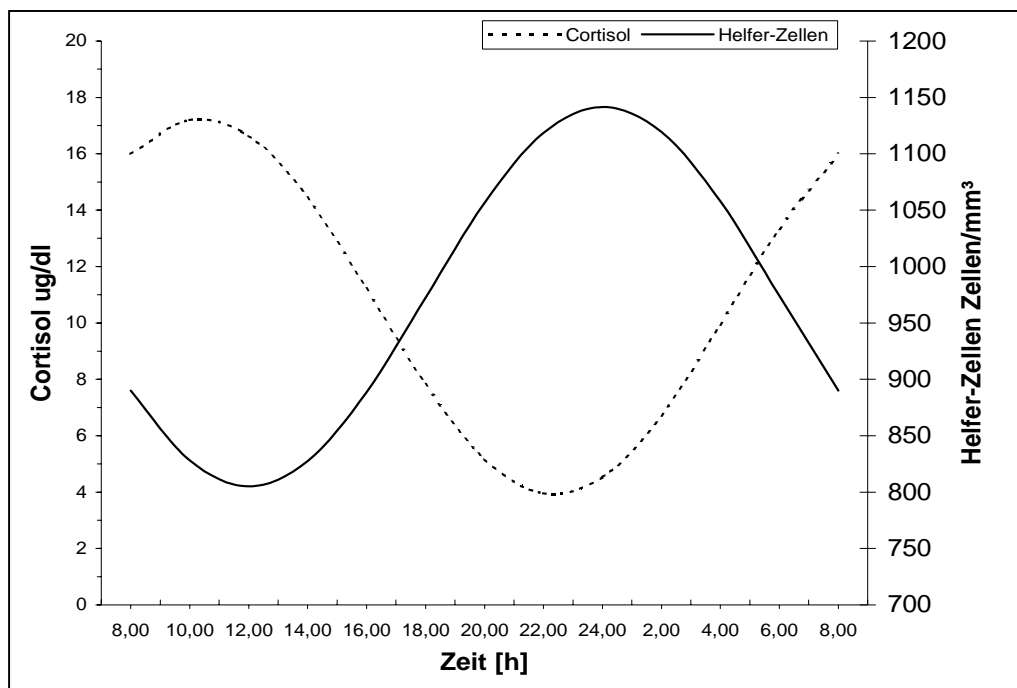
Entsprechend fällt auch der Vergleich der Helfer-Zellenkurve mit der Cortisolkurve aus. Zunächst der synchrone Abfall in den ersten vier Stunden der jedoch beim Cortisol deutlich stärker ausgeprägt ist. Danach der deutlich unterschiedliche Verlauf mit weiterem Abfall des Cortisol bei Anstieg der Helfer-Zellen und Erreichen des jeweiligen Minimum bzw. Maximum am Abend bzw. in der Nacht. Gegen Ende der Messungen weiterhin der gegensätzliche Verlauf der Kurven mit Abfall der Helfer-Zellen und Anstieg des Cortisol und somit Annäherung der Kurven und in der letzten Messperiode gleichgerichteter Anstieg. Die einzelnen Werte zeigen entsprechend deutliche Signifikanzen während des gesamten Verlaufes ausser an den Stellen, an denen sich die Kurven schneiden oder gleichgerichtet verlaufen.

Abbildung 3-70: Vergleich der Cortisol- und Helfer-Zellen-Werte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%



Um die Gegensätzlichkeit besser darzustellen, werden hier wie zuvor die beiden Cosinorkurven präsentiert. Deutlich zeigt sich der unterschiedliche Verlauf mit Minimum des Cortisol am Abend bei zwei Stunden späterem Maximum der Helfer-Zellen.

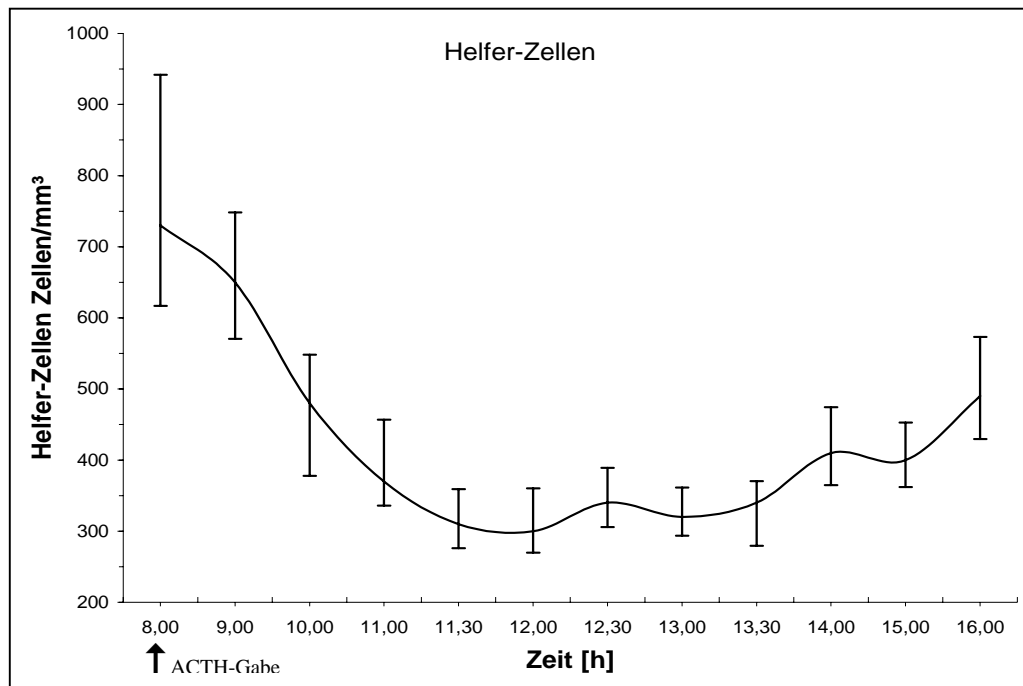
Abbildung 3-71: Vergleich der Cortisol und Helfer-Zellen Cosinorkurven der 24h-Gruppe



3.9.2 Tag-Gruppe

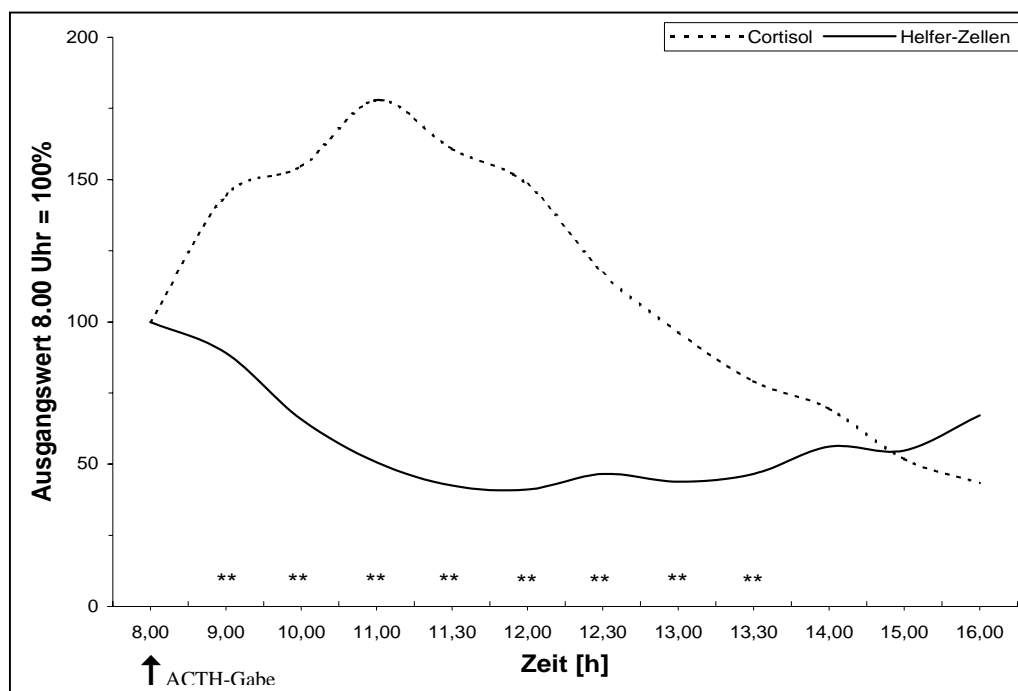
Der Verlauf der Helfer-Zellen der Tag-Gruppe zeigt am Morgen einen deutlichen gleichmäßigen Abfall von etwa 60% bis zum Minimum gegen 12.00 Uhr. Danach kommt es zu einem leicht schwankenden langsamen Anstieg am Nachmittag, wobei der Ausgangswert nicht mehr erreicht wird.

Abbildung 3-72: Helfer-Zellen-Kurve der Tag-Gruppe



Der Vergleich der Helfer-Zellen mit Cortisol zeigt in der Tag-Gruppe den starken Abfall der Helfer-Zellen bei gleichzeitigem Anstieg des Cortisol. Das Erreichen des Maximum und anschließende Abfallen der Kurve ist beim Cortisol aber früher und der Umschwung abrupter als bei den Helferzellen nach dem Erreichen des Minimum. Die statistische Untersuchung dieser Kurvenverläufe zeigt bei den einzelnen Werten Signifikanzen zu praktisch allen Zeiten der Kurvenverläufe wobei zu Beginn und Ende, in den Bereichen wo die Kurven in gleichen Wertebereichen verlaufen, keine Signifikanzen auftreten.

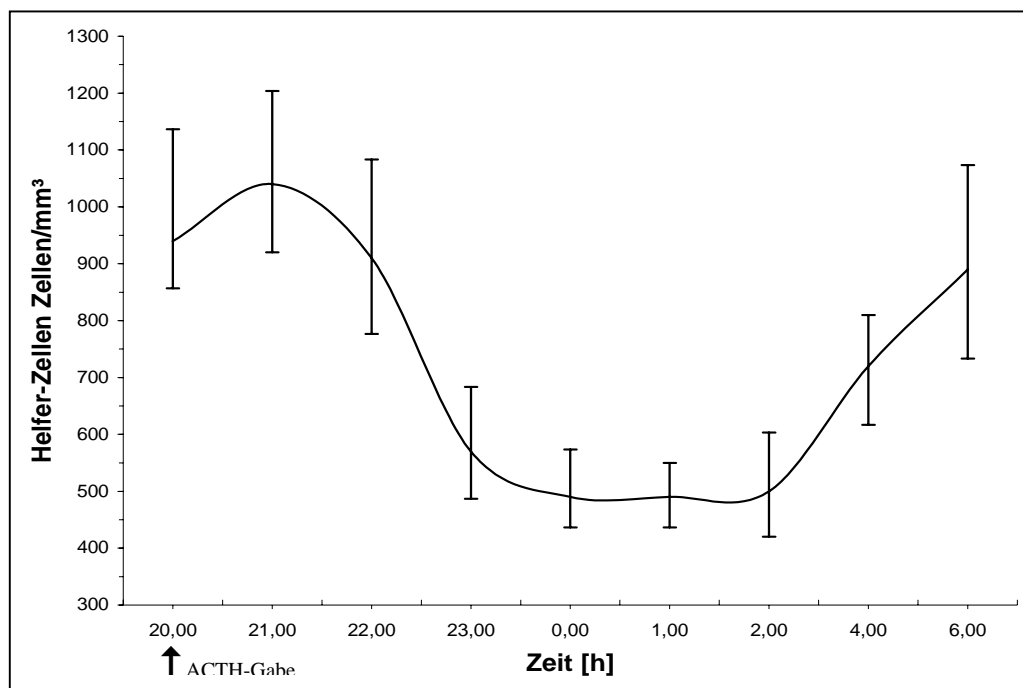
Abbildung 3-73: Vergleich der Cortisol- und Helfer-Zellen-Werte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.9.3 Nacht-Gruppe

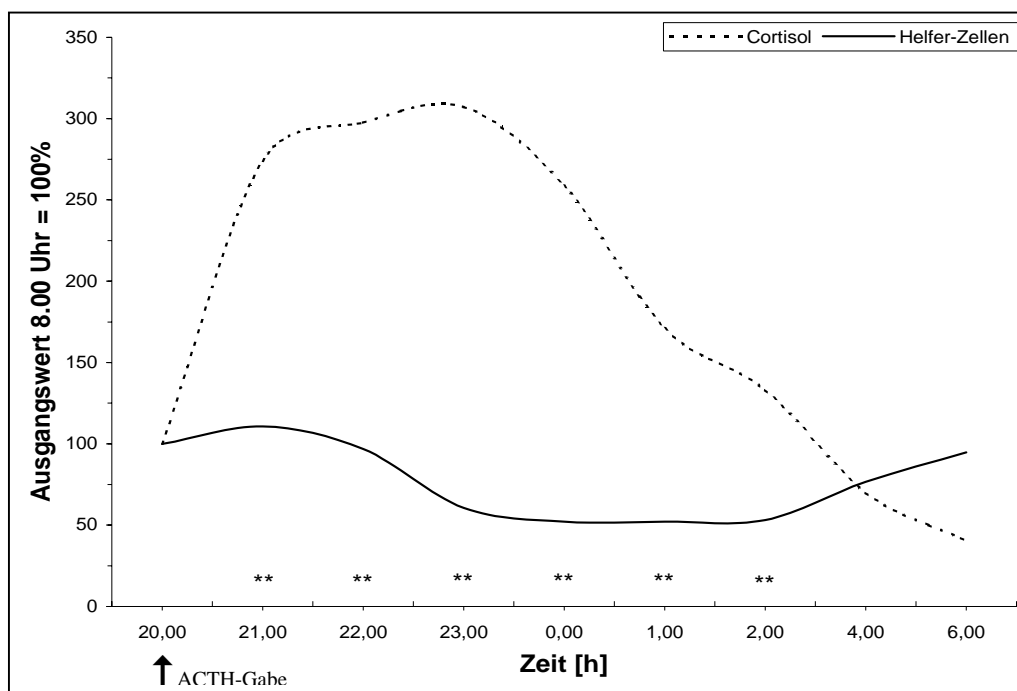
Beim Verlauf der Nacht-Gruppe kommt es ebenfalls zu einem deutlichen Abfall der Werte um ca. 45% innerhalb der ersten vier Stunden, wobei jedoch in der ersten Stunde ein Anstieg um etwa 10% zu vermerken ist. Nach einer stabilen Wertephase bis etwa 2.00 Uhr, ist dann ein Anstieg auf fast wieder das Ausgangsniveau zu verzeichnen. Der Kurvenverlauf ist sehr stabil ohne Schwankungen.

Abbildung 3-74: Helfer-Zellen-Kurve der Nacht-Gruppe



Beim direkten Vergleich der Helfer-Zellen mit dem Cortisol zeigt sich noch einmal deutlich der entgegengesetzte Verlauf der Kurven. Während zu Beginn durch den einstündigen Anstieg der Helfer-Zellen eine gleichgerichtete Bewegung der Kurven vorliegt, kommt es danach während des gesamten Messbereiches zu entgegengesetzten Verläufen der Kurven. Im mittleren Bereich fällt zudem die Konstanz der Helfer-Zellen beim schnellen Umschwenken von Anstieg zu Abfall des Cortisol ins Auge. Die einzelnen Werte sind, ausser zu Beginn und Ende der Messung, überall signifikant was die Unterschiedlichkeit weiterhin unterstreicht.

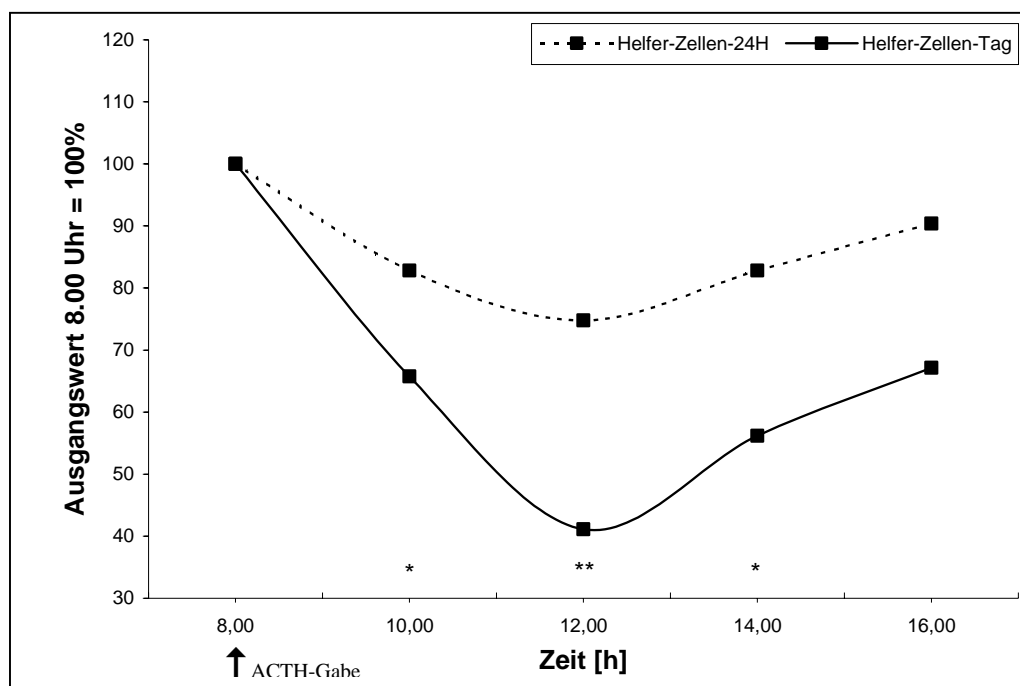
Abbildung 3-75: Vergleich der Cortisol- und Helfer-Zellen-Werte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%



3.9.4 Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe

Der direkte Vergleich der Werte von Tag-Gruppe und 24h-Gruppe zeigt den stärkeren Abfall in der Tag-Gruppe. Dieser wird von dem anschließenden Anstieg, der bei beiden Gruppen fast parallel verläuft, nicht wieder ausgeglichen wodurch auch zu Ende der Verläufe unterschiedliche Niveaus der Kurven ergeben. Der Einzelwert Vergleich mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergibt signifikante Werte um 10.00 Uhr, 12.00 Uhr und 14.00 Uhr.

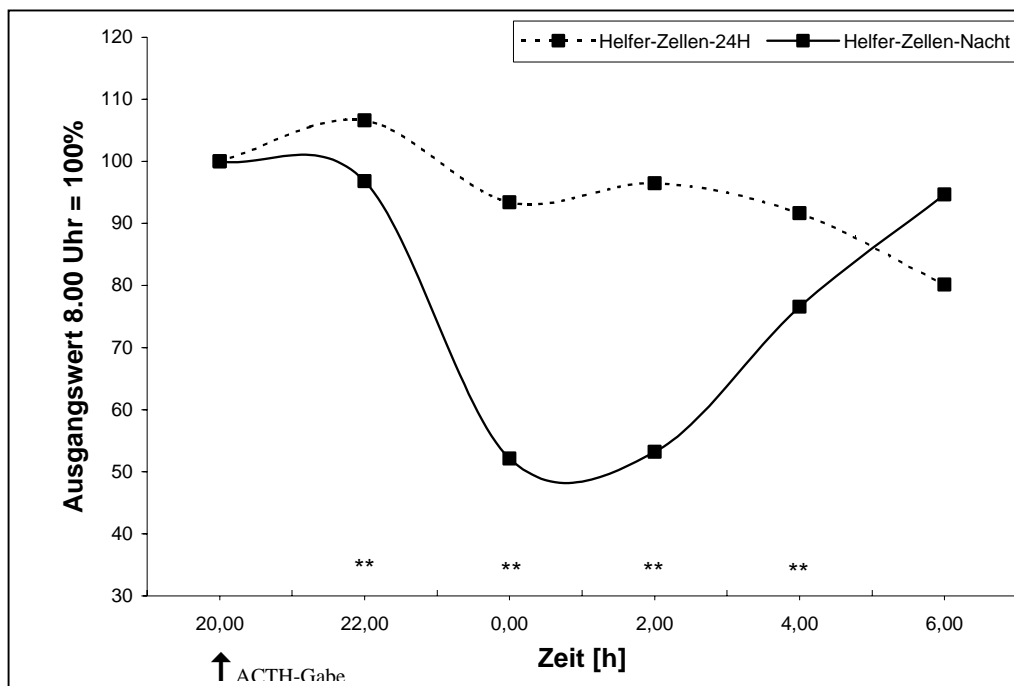
Abbildung 3-76: Vergleich der Helfer-Zellen-Werte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.9.5 Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe

In der Nacht-Gruppe findet sich bei den Helfer-Zellen ebenfalls ein signifikanter Unterschied im Kurvenverlauf mit den 24h-Gruppe im Mittelbereich der Messungen. Die beiden Kurven unterscheiden sich hier jedoch stärker, wodurch auch die Signifikanzen deutlich vermehrt und mit höherem Niveau zum Ausdruck kommen. Nur im ersten Teil ist eine gleichgerichtete Bewegung der Kurven festzustellen, die zudem in der Nacht-Gruppe deutlicher ausgeprägt ist, dann kommt es jedoch zum konträren Verhalten der Parameter. Der starke Anstieg der Nacht-Gruppe im zweiten Teil und der gleichzeitige Abfall bei der 24-Stunden-Gruppe führen sogar zum Überschneiden der Kurven und damit Vertauschen der Niveaulage am Ende.

Abbildung 3-77: Vergleich der Helfer-Zellenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%

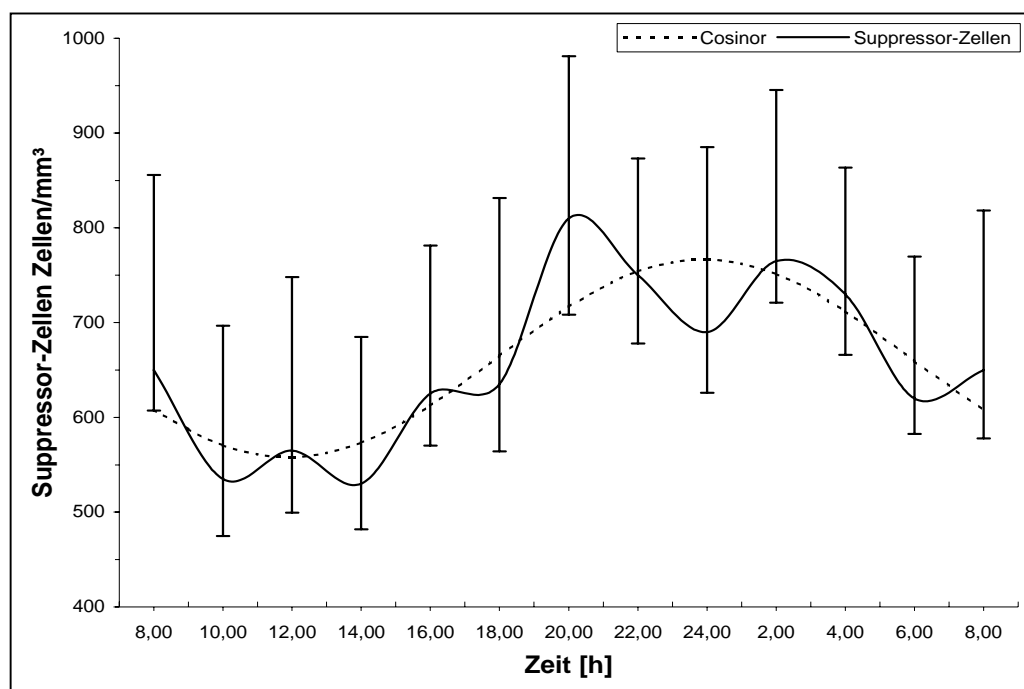


3.10 Suppressor-Zellen

3.10.1 24h-Gruppe

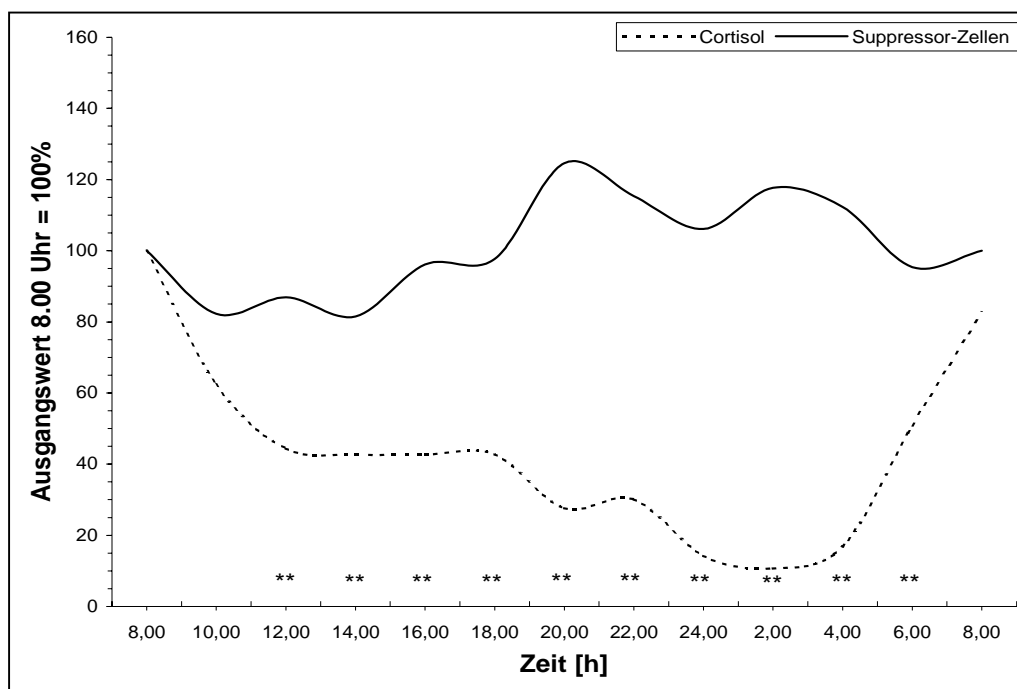
In den ersten zwei Stunden kommt es bei den Suppressor-Zellen zu einem Abfall von etwa 20%. Danach, im Anschluss an eine leichte Auf- und Abschwankung bis 14.00 Uhr, zu einem kräftigen Anstieg auf ein Niveau etwa 30% oberhalb des Ausgangswertes beim Maximum gegen 2.00 Uhr. Darauf folgt der schwankende Abfall zum Morgen. Die Fluktuationen treten am Morgen eher im vierstündigen, in der Nacht im sechsstündigen Abstand auf. Die Cosinorkurve zeigt die deutliche Rhythmik mit Minimum um 12.00 Uhr und Maximum um 24.00 Uhr.

Abbildung 3-78: Suppressor-Zellen- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe



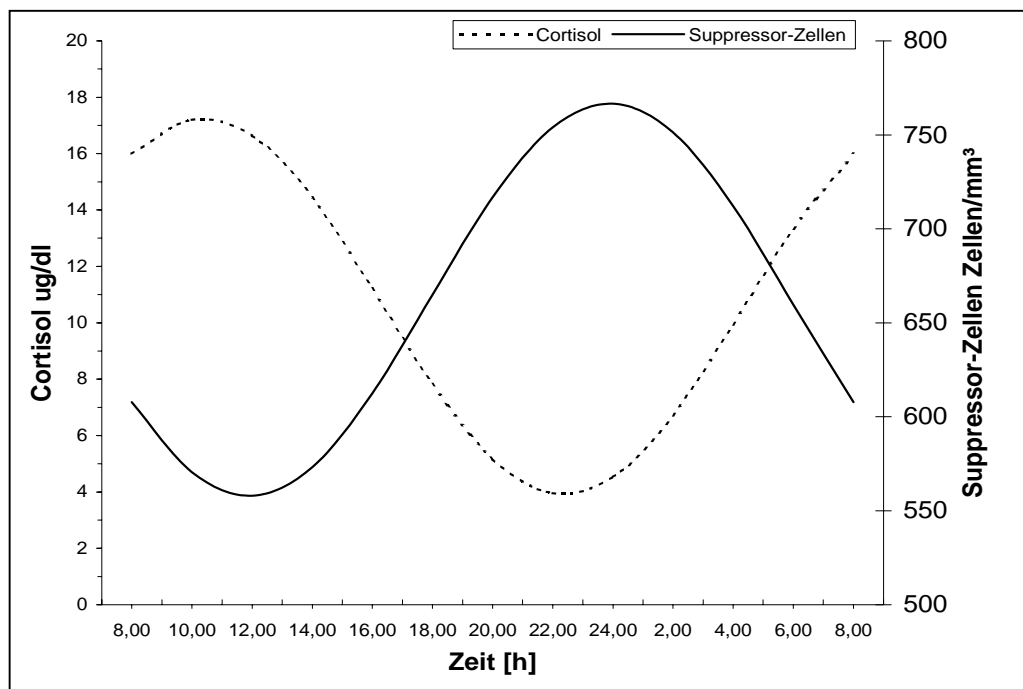
Der Vergleich der Suppressor-Zellenkurve mit der Cortisolkurve zeigt eine praktisch gegensätzlich laufende Rhythmik, wenn auch deutlich geringer ausgeprägt. Während die Cortisolwerte vom Morgen zur Nacht hin abfallen um dann wieder zu steigen ist dies bei den Suppressor-Zellen konträr. Nur der Abfall in den ersten zwei Stunden, bzw. die folgende stabile Niveaulage bis 14.00 Uhr sind gleichgerichtet. Die einzelnen Werte zeigen deutliche Signifikanzen, ausser an den Stellen an denen die Kurven parallel verlaufen, in der statistischen Überprüfung mit dem Mann-Whitney-U-Test.

Abbildung 3-79: Vergleich der Cortisol- und Suppressor-Zellenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%



Der direkte Vergleich der Cosinorkurven beider Parameter zeigt diese Gegenläufigkeit deutlicher auf. Minima und Maxima der beiden Kurven liegen fast genau entgegengesetzt, wobei die Suppressor-Zellen zwei Stunden zum Cortisol versetzt sind.

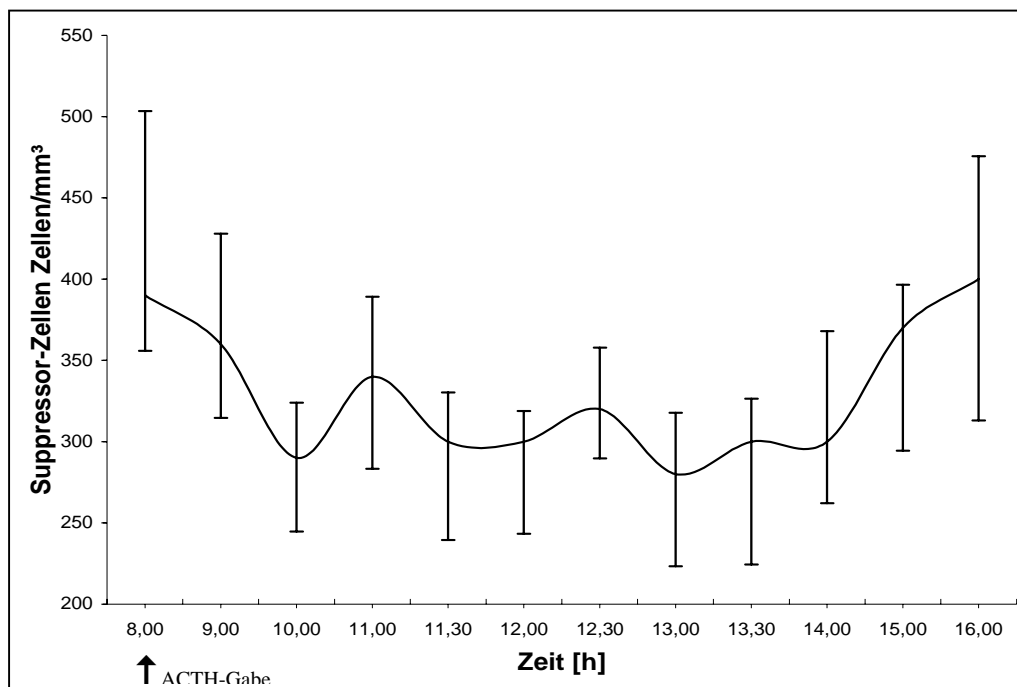
Abbildung 3-80: Vergleich der Cortisol und Suppressor-Zellen Cosinorkurven der 24h-Gruppe



3.10.2 Tag-Gruppe

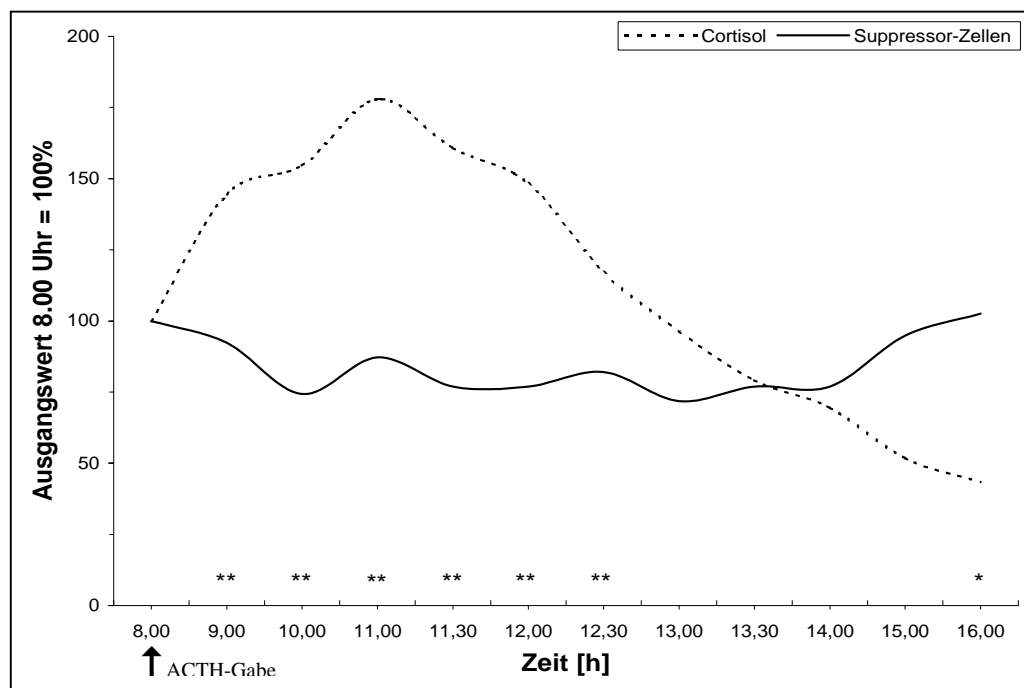
Der Verlauf der Suppressor-Zellen der Tag-Gruppe zeigt insgesamt einen geringen Abfall am Morgen innerhalb der ersten beiden Stunden und einen Anstieg am Ende der Messungen, besonders ebenfalls in den letzten beiden Stunden, mit einer stabilen Zwischenphase. Dabei sind vor allem viele Schwankungen zu bemerken bei denen eine Regelmäßigkeit aber nicht auszumachen ist. Der Ausgangswert vom Morgen wird am Schluss wieder erreicht.

Abbildung 3-81: Suppressor-Zellen-Kurve der Tag-Gruppe



Der Vergleich der Suppressor-Zellenkurve mit der Cortisolkurve zeigt in der Tag-Gruppe zunächst den schon beschriebenen Abfall der Suppressor-Zellen innerhalb der ersten zwei Stunden. Während dieser Zeit steigen die Cortisolwerte kräftig an. Das folgende Maximum und anschließende Abfall des Cortisol wird von den Suppressor-Zellen mit einem Kontinuum mit sehr geringem Abfall begleitet. Erst am Nachmittag kommt es bei weiterem Abfall der Cortisolwerte zum Anstieg der Suppressor-Zellen. Die statistische Untersuchung dieser Kurvenverläufe zeigt bei den einzelnen Werten Signifikanzen am Vormittag und dem 16.00 Wert am Nachmittag an den Stellen an denen die Kurven am deutlichsten voneinander Verlaufen.

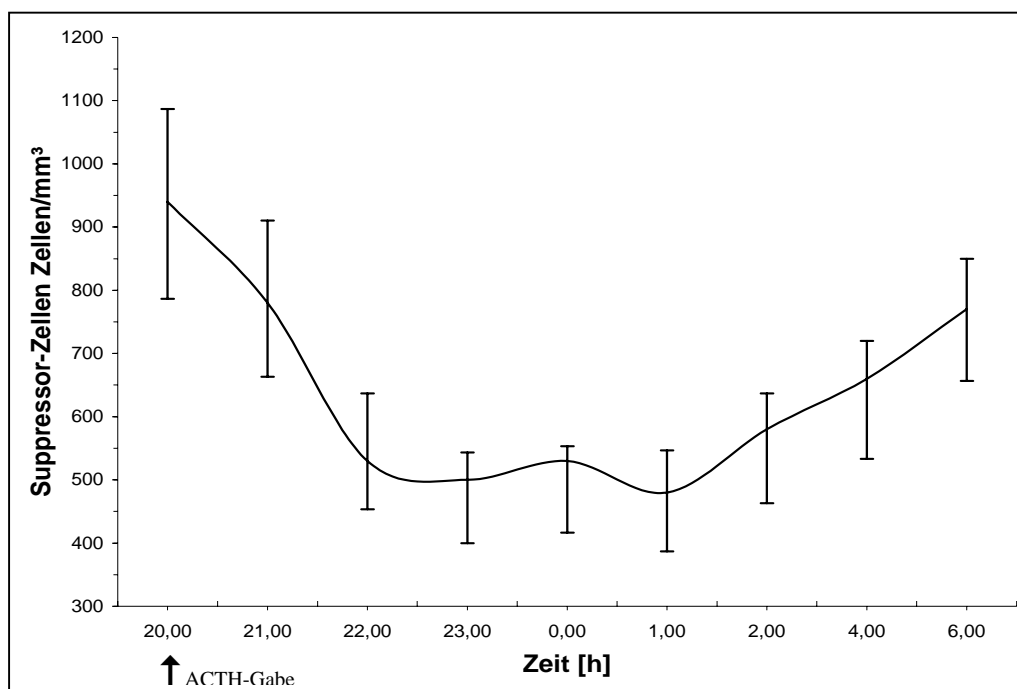
Abbildung 3-82: Vergleich der Cortisol- und Suppressor-Zellenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.10.3 Nacht-Gruppe

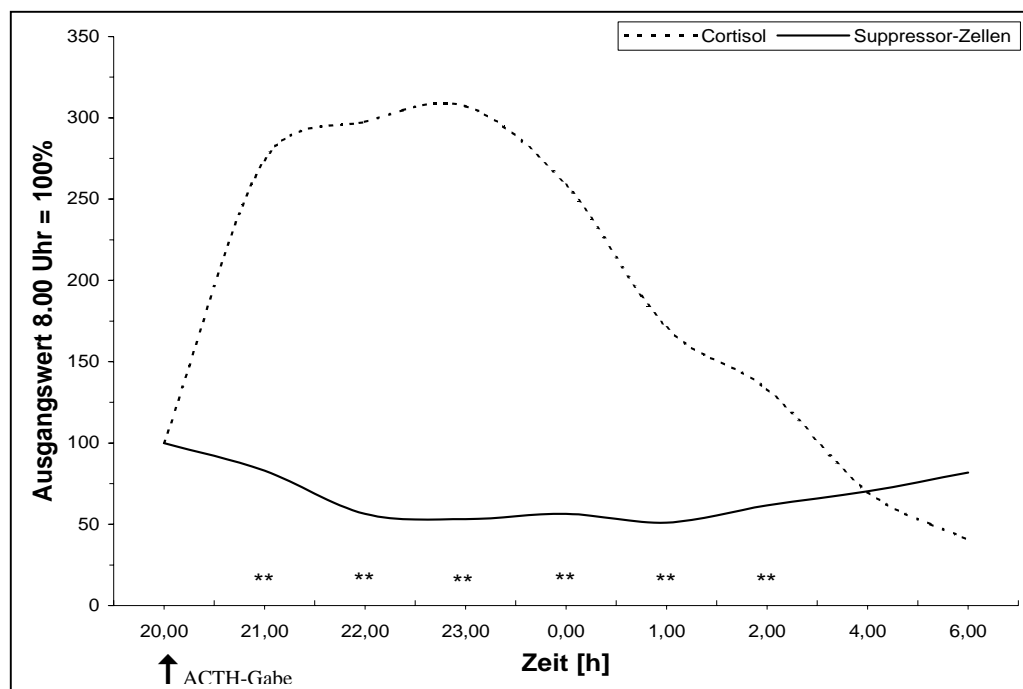
Der Verlauf in der Nacht-Gruppe ist dem der Tag-Gruppe ähnlich, jedoch deutlicher ausgeprägt. Auch hier kommt es nach der ACTH-Gabe zu einem kontinuierlichen Abfall der Werte in den ersten beiden Stunden, jedoch um etwa 45%. Die Werte fallen dann noch etwas weiter bis um 1.00 Uhr in einer eher plateauartigen Phase mit einer Schwankung. Im weiteren Verlauf zum Ende der Messungen folgt dann ein kontinuierlicher, jedoch schwächerer Anstieg, so dass der Ausgangswert nicht wieder erreicht wird.

Abbildung 3-83: Suppressor-Zellen-Kurve der Nacht-Gruppe



Das Bild beim Vergleich der Suppressor-Zellenkurve mit der Cortisolkurve ist entsprechend. Der Anstieg des Cortisol wird von einem Abfall der Suppressor-Zellen begleitet. Es kommt kurze Zeit nach Erreichen des ersten Gipfelwertes beim Cortisol zum ersten „lokalen“ Minimum der Suppressor-Zellen, und kurze Zeit nach Erreichen des Maximums beim Cortisol erreichen die Suppressor-Zellen den niedrigsten Wert. Der folgende Abfall des Cortisol bei Anstieg der Suppressor-Zellen schließt den Kurvenverlauf ab. Die einzelnen Werte zeigen wiederum ausser an den Kreuzungsstellen der Kurven deutliche Signifikanzen im gesamten Verlauf.

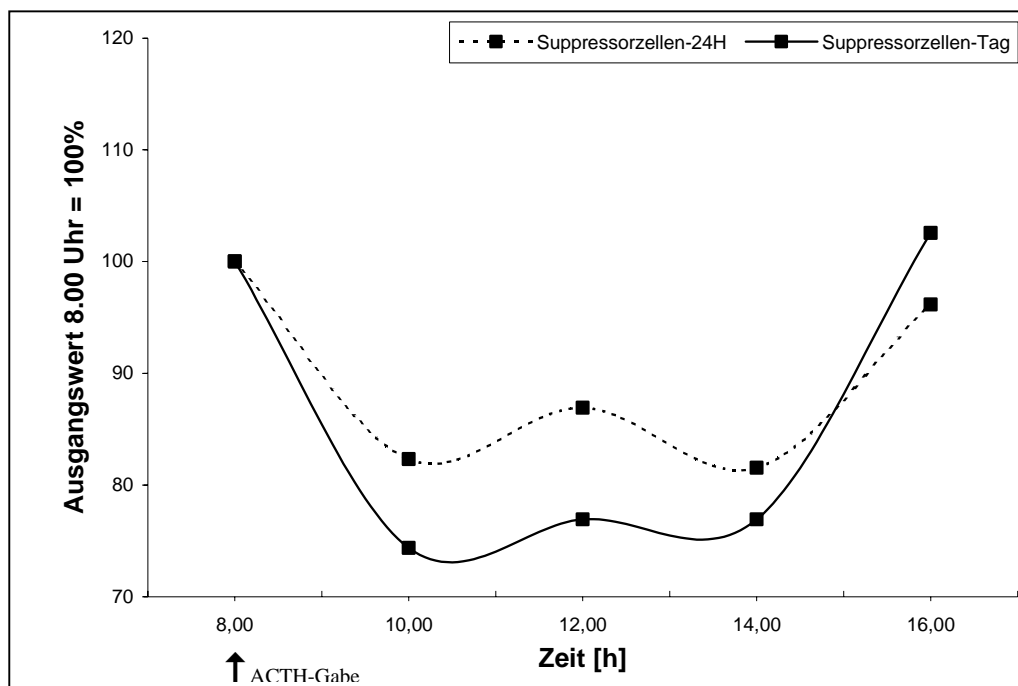
Abbildung 3-84: Vergleich der Cortisol- und Suppressor-Zellenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%



3.10.4 Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe

Der direkte Vergleich ergibt bei den Suppressor-Zellen in der statistischen Analyse keinen signifikanten Unterschied der Kurven zueinander. Dies ist zurückzuführen auf den quasi vollständig parallelen Verlauf der Kurven, bei dem nur durch den stärker ausgeprägten Abfall und Anstieg der Tag-Gruppe ein niedrigeres Niveau der Werte dieser Gruppe vorhanden ist.

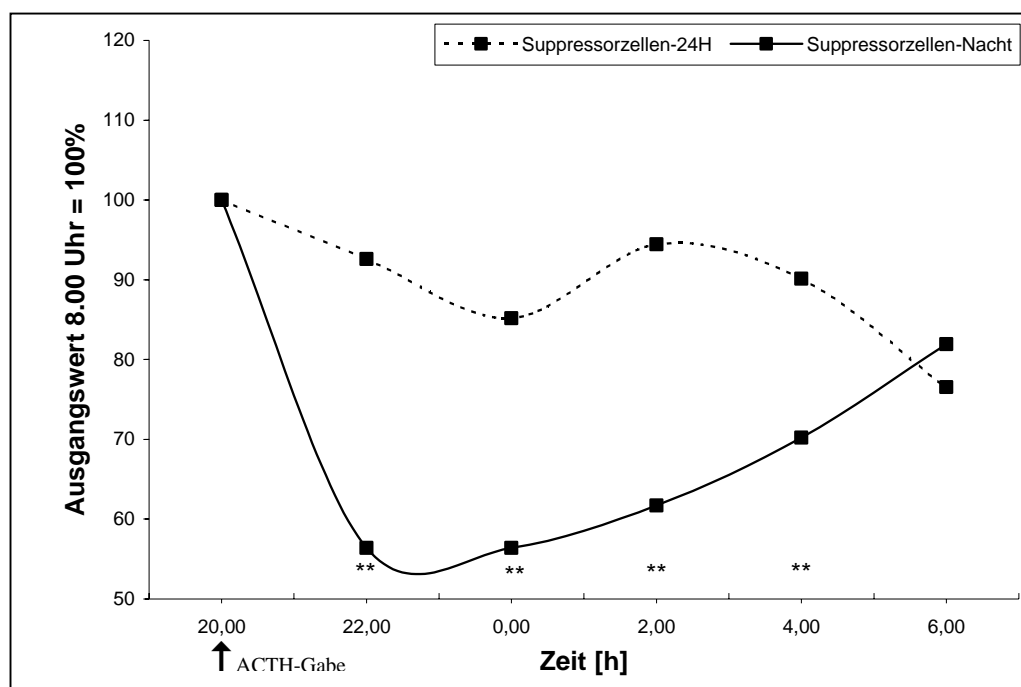
Abbildung 3-85: Vergleich der Suppressor-Zellenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.10.5 Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe

In der Nacht-Gruppe findet sich bei den Suppressor-Zellen hingegen ein signifikanter Unterschied im Vergleich der Kurve mit der 24h-Gruppe zwischen 22.00 Uhr und 4.00 Uhr beim Mann-Whitney-U-Test. Die große Differenz der Kurven kommt durch den starken Abfall der Werte der Nacht-Gruppe zustande. Der anschließende Anstieg führt dann wieder zu einer Annäherung der Werte. Insgesamt ist der Verlauf aber auch graphisch sehr verschieden.

Abbildung 3-86: Vergleich der Suppressor-Zellenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%

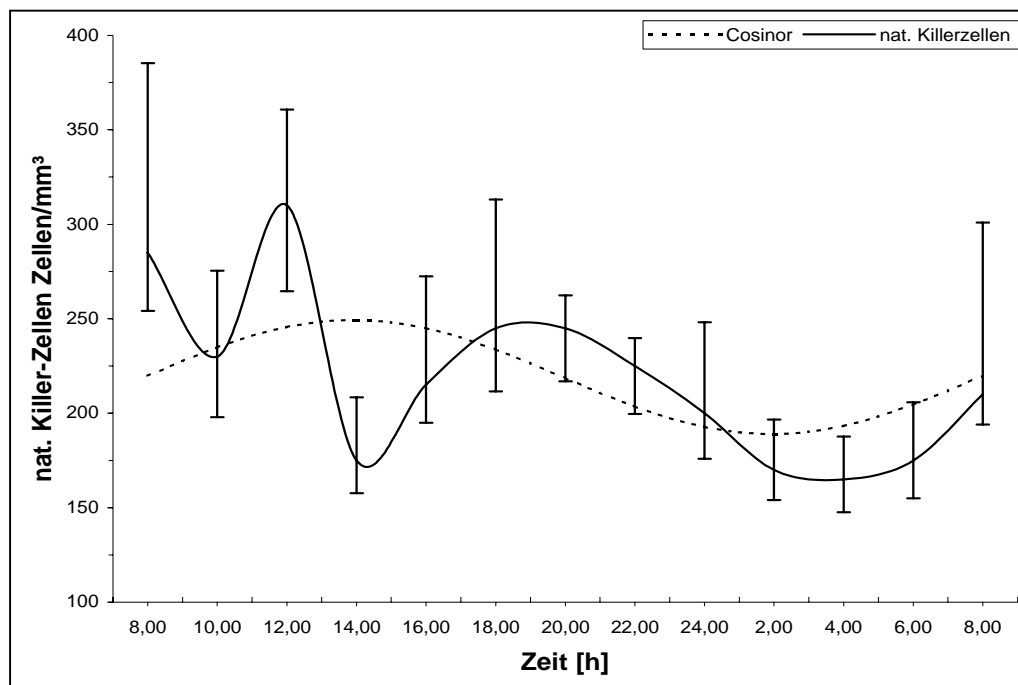


3.11 Natürliche Killer-Zellen

3.11.1 24h-Gruppe

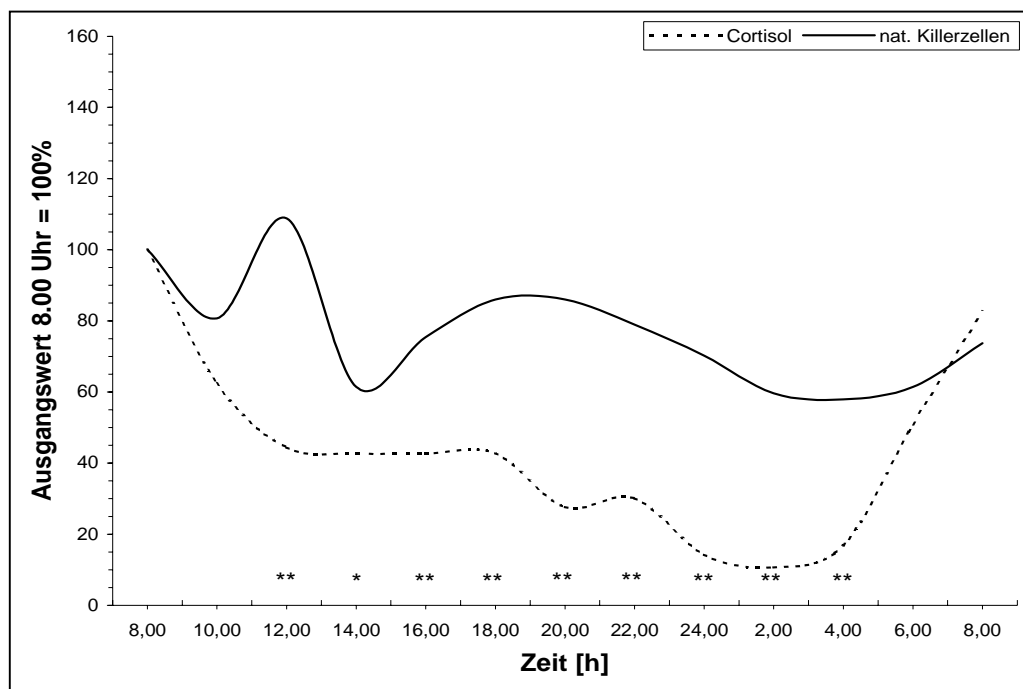
Die natürlichen Killer-Zellen weisen einen sehr unregelmäßigen Verlauf auf. Starke Schwankungen unterworfen fallen die Werte von einem eher höheren Niveau morgens auf tiefere Werte nachts ab. Dieser Verlauf wird durch die Cosinor-Funktion mit dem Maximum um 14.00 Uhr und Minimum um 2.00 dargestellt. Das absolute Minimum wird um 4.00 Uhr erreicht, wobei aber zwei lokale Tiefpunkte um 10.00 Uhr und 14.00 Uhr auffallen. Zwischen diesen beiden „lokalen“ Minima kommt es jeweils zu kurzen jedoch ausgeprägten Anstiegen.

Abbildung 3-87: Natürliche Killer-Zellen- und Cosinorkurve der 24h-Gruppe



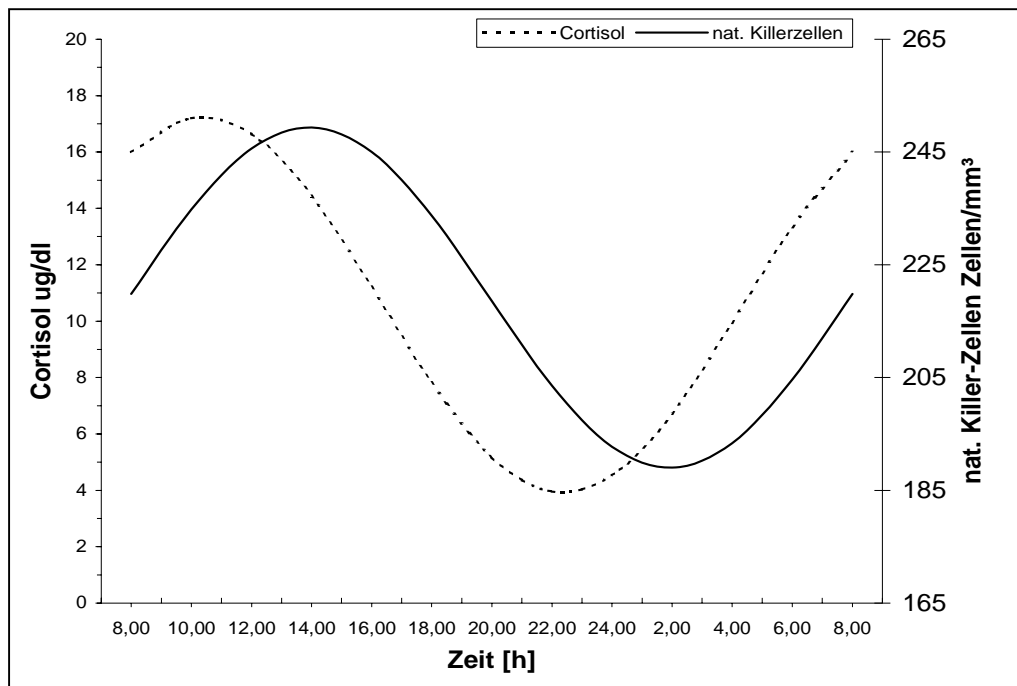
Beim Vergleich von Cortisol und natürlichen Killer-Zellen kann man eine gewisse Gleichgerichtetheit der Verläufe feststellen. Wie oben beschrieben haben die natürlichen Killer-Zellen morgens eher eine höhere Niveaulage als am Abend, was dem Verlauf des Cortisol entspricht. Die starken Schwankungen im Kurvenverlauf erschweren den deutlichen Vergleich jedoch.

Abbildung 3-88: Vergleich der Cortisol- und natürlichen Killer-Zellenwerte der 24h-Gruppe, 8.00 = 100%



Den ähnlichen Verlauf stellt daher die Anwendung der Cosinorkurven beider Parameter gut dar. Im Gegensatz zu allen anderen dargestellten Zelltypen laufen hier die Kurven parallel mit einer Zeitversetzung von 4 Stunden. Minima und Maxima der beiden Kurven liegen nicht entgegengesetzt.

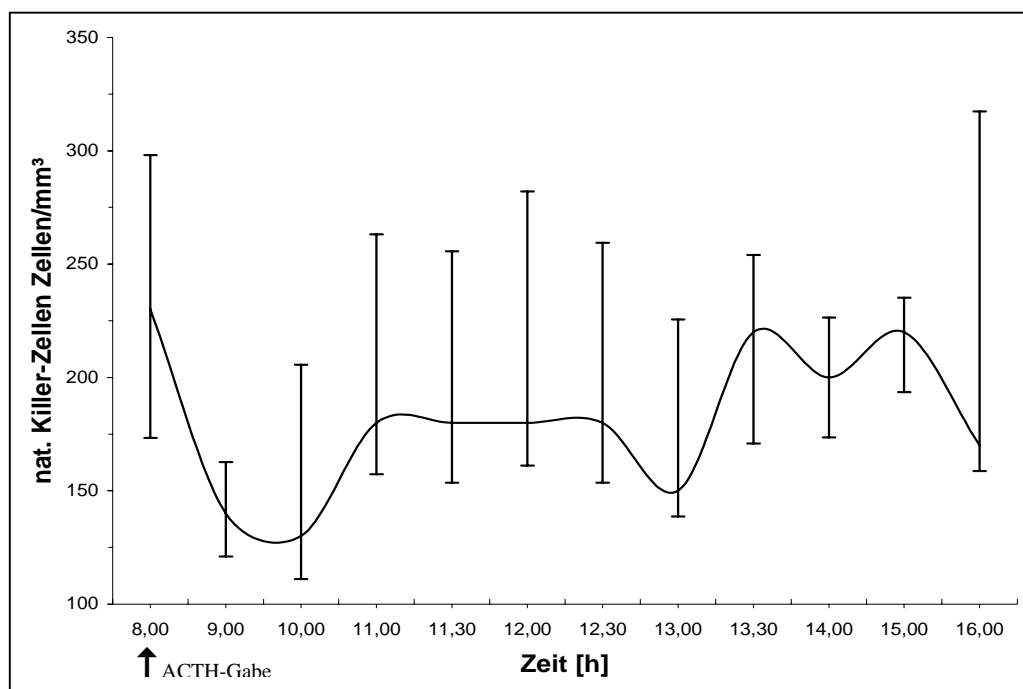
Abbildung 3-89: Vergleich der Cortisol und natürlichen Killer-Zellen Cosinorkurven der 24h-Gruppe



3.11.2 Tag-Gruppe

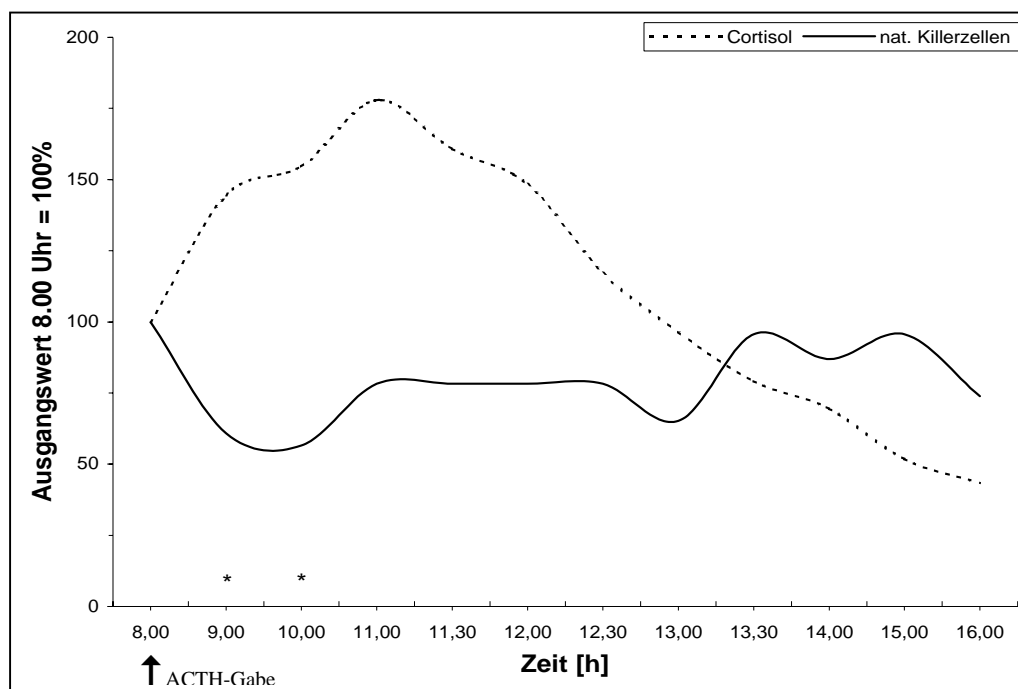
Die natürlichen Killer-Zellen fallen innerhalb der ersten zwei Stunde ab, steigen danach jedoch mit ausgeprägten Schwankungen bis zu hohen Nachmittagswerten hin an. Der Höchstwert ist der Ausgangswert um 8.00 Uhr welcher am Nachmittag ab 13.30 Uhr fast wieder erreicht wird. Nach dem Abfall am Morgen und einem kurzen ersten Anstieg in der dritten Stunde besteht zwischen 11.00 Uhr und 13.00 Uhr eine Phase ohne große Niveauveränderung.

Abbildung 3-90: Natürliche Killer-Zellenkurve der Tag-Gruppe



Der Vergleich der natürlichen Killer-Zellen- mit der Cortisolkurve bei der Tag-Gruppe zeigt eine gegengerichtete Ausrichtung der Verläufe. Der Anstieg des Cortisol wird vom Abfall der natürlichen Killer-Zellen begleitet und auch in der zweiten Untersuchungshälfte ist der Abfall des Cortisol eher einem Ansteigen der Werte der natürlichen Killer-Zellen gegenüber gestellt. Die starken Schwankung der natürlichen Killer-Zellen macht diese Aussage jedoch schwierig und auch die statistische Untersuchung mit dem Mann-Whitney-U-Test weißt nur geringe Signifikanzen am Beginn der Untersuchung auf.

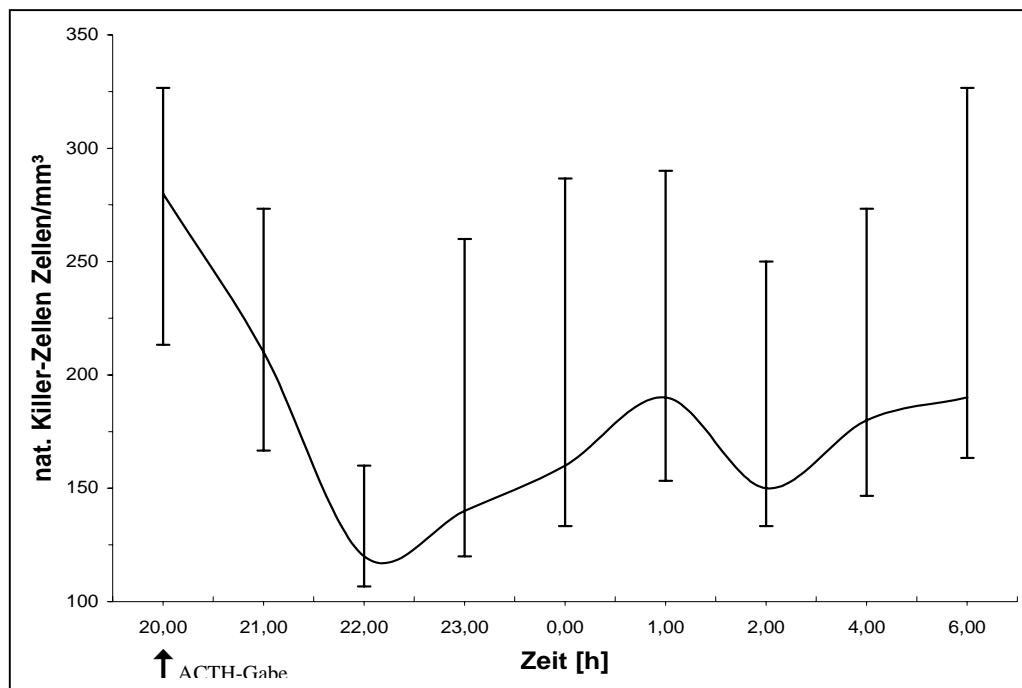
Abbildung 3-91: Vergleich der Cortisol- und natürlichen Killer-Zellenwerte der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.11.3 Nacht-Gruppe

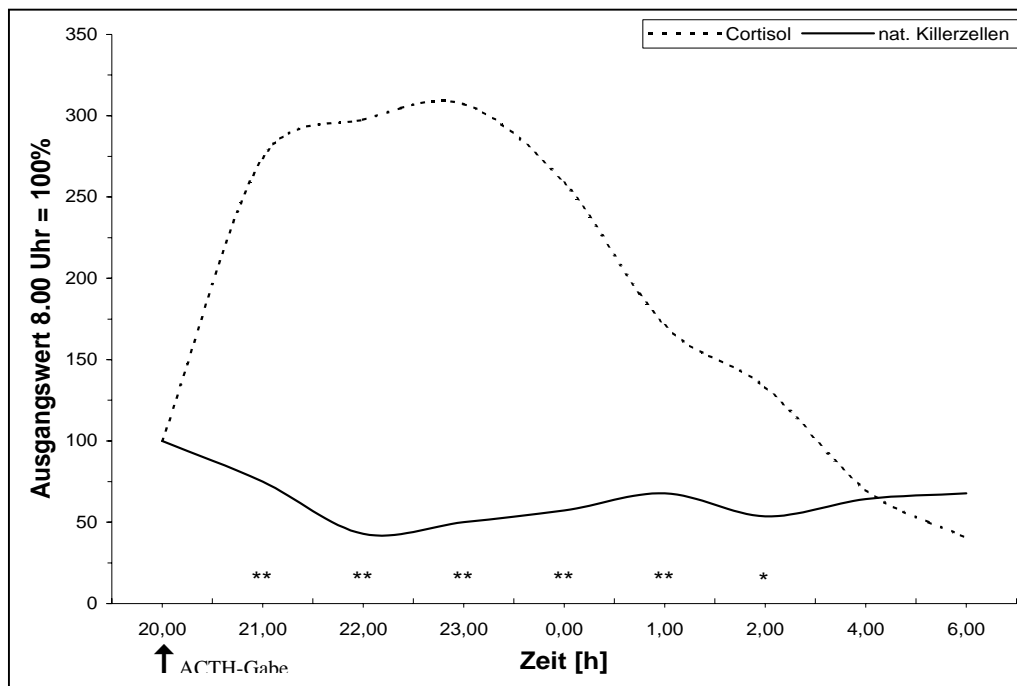
In der Nacht-Gruppe ist der Verlauf ruhiger als in der Tag-Gruppe. Auch hier ist zunächst ein Abfall innerhalb der ersten zwei Stunden zu verzeichnen, der jedoch stärker ausgeprägt ist mit fast 60% des Ausgangswertes. Danach folgt ein zweiphasiger Anstieg bis zum Morgen mit einer Unterbrechung und Abfall zwischen 1.00 Uhr und 2.00 Uhr. Es wird ein Niveau von etwa 70% des Ausgangswertes erreicht.

Abbildung 3-92: Natürliche Killer-Zellenkurve der Nacht-Gruppe



Das Bild beim Vergleich der natürlichen Killer-Zellen mit der Cortisolkurve ist in der Nacht-Gruppe wieder gegensätzlich. Der starke Anstieg des Cortisol liegt zeitgleich mit dem Abfall der natürlichen Killer-Zellen. Ebenso der anschließende Anstieg, bzw. Abfall der Werte, nur das hier die Stärke der Änderung bei den natürlichen Killer-Zellen geringer ist und das Minimum des natürlichen Killer-Zellen vor dem Maximum des Cortisol liegt. Die einzelnen Werte zeigen ausser an den Kreuzungsstelle der Kurven deutliche Signifikanzen in der statistischen Überprüfung.

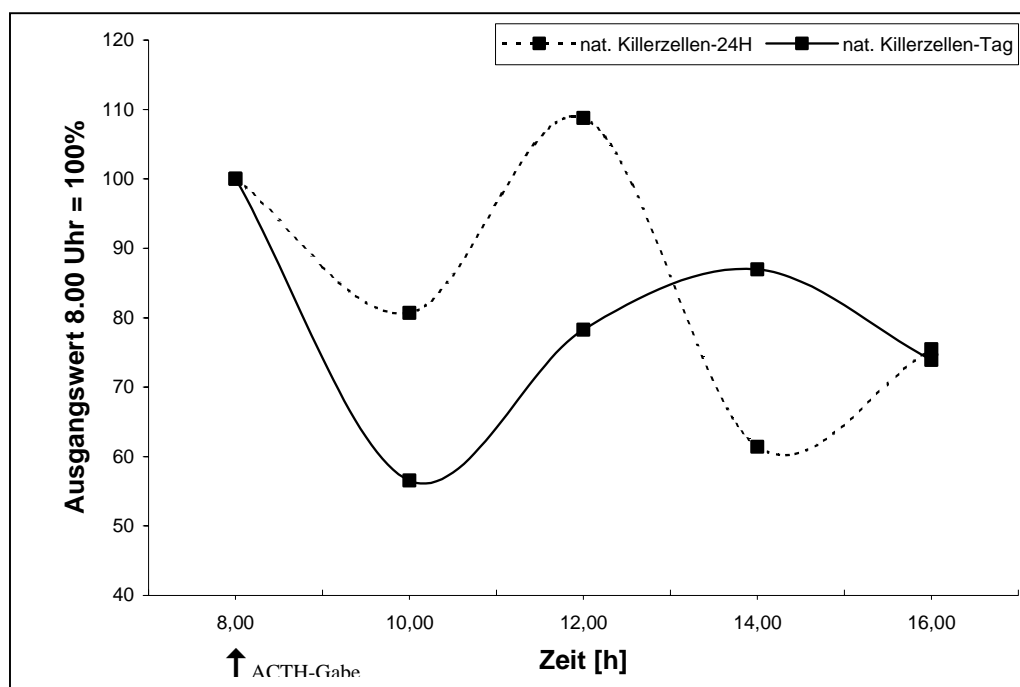
Abbildung 3-93: Vergleich der Cortisol- und natürlichen Killer-Zellenwerte der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%



3.11.4 Vergleich 24h-Gruppe zur Tag-Gruppe

Der direkte Vergleich der Werte der natürlichen Killer-Zellen der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe zeigt bei der Tag-Gruppe den drastischeren Abfall der Werte nach der ACTH-Gabe. Der anschließende Anstieg zum 12.00 Uhr Wert ist etwa gleich. Danach zeigen beide Kurven einen gegensätzlichen Verlauf, der jedoch zu einem gemeinsamen Werte-Niveau am Ende der Messungen führt. Der Einzelwert Vergleich mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergibt keine signifikanten Unterschiede für diesen Kurvenverlauf.

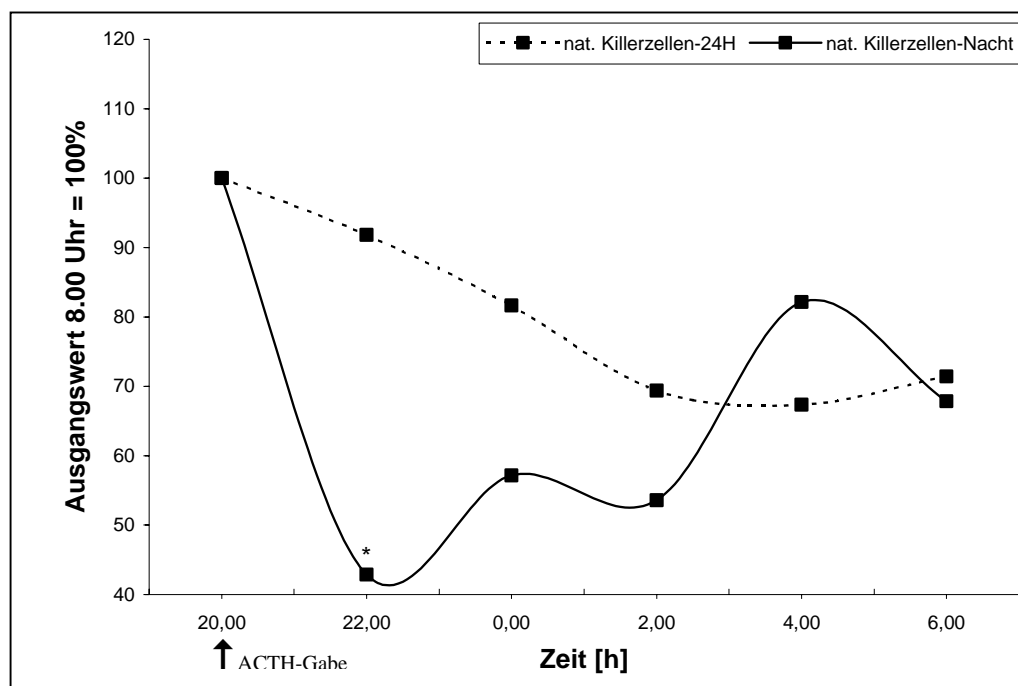
Abbildung 3-94: Vergleich der natürlichen Killer-Zellenwerte der 24h-Gruppe und der Tag-Gruppe, 8.00 = 100%



3.11.5 Vergleich 24h-Gruppe zu Nacht-Gruppe

In der Nacht-Gruppe findet sich bei den natürlichen Killer-Zellen ebenfalls ein prägnanter Abfall der Werte in den ersten zwei Stunden nach der ACTH-Gabe. Danach führt der unterschiedliche Verlauf der Kurven mit schwankendem Anstieg der Werte der Nacht-Gruppe bei gleichmäßigem Abfall der Werte der 24-Stunden-Gruppe wieder zu einer Annäherung wobei sogar die Niveaulage einmal vertauscht wird. Bei den Einzelwerten ist nur die 22.00 Uhr Messung, als am deutlichsten divergierende, signifikant.

Abbildung 3-95: Vergleich der natürlichen Killer-Zellenwerte der 24h-Gruppe und der Nacht-Gruppe, 8.00 = 100%



4 Diskussion

Wie im Kapitel 1.4, „Ziel der Arbeit“, dargestellt sollen die in den Ergebnissen dargestellten Resultate der Untersuchung bei den verschiedenen Gruppen eine bessere Aussage über den steuernden Einfluss von endogenen Erhöhungen des Cortisolspiegels auf die jeweiligen immunkompetenten Zelltypen geben. Daher wird auch das Kapitel „Diskussion“ entsprechend für jede Zellart einzeln aufgebaut.

4.1 Cortisol

Beim Cortisol wird die aus vorangegangenen Arbeiten [z.B. Kronfol et al. 1997] bekannte Rhythmik mit Maximum am Morgen und treppenförmigem Abfall der Werte zum Minimum in der Nacht durch die Resultate der 24h-Gruppe bestätigt.

Bei Stimulation durch Gabe von ACTH ist ein deutlicher Anstieg innerhalb der ersten zwei bis drei Stunden sowohl in der Tag- als auch der Nacht-Gruppe zu verzeichnen. In der Tag-Gruppe fällt die Antwort auf ACTH schwächer aus und liegt im Durchschnitt nur bei dem 1,8-fachen des Ausgangswertes. Der Anstieg ist jedoch bei allen Versuchspersonen im Rahmen von 7-10 µg/dl oder darüber, was als Kriterium für einen normalen ACTH-Test angenommen wird [Renold et al. 1952, Bethge et al. 1972].

In der Nacht-Gruppe kommt es zu einem wesentlich stärkeren Anstieg des Cortisol nach ACTH-Gabe. Hier liegen die Werte im Durchschnitt um das 3,1-fache höher als der abendliche Ausgangswert. Die Maxima beider Gruppen erreichen durch die Gabe des ACTH Werte im Bereich zwischen etwa 30 - 35 µg/dl.

Dieser Unterschied in der Reaktivität auf das ACTH ist auf die Differenz der Ausgangswerte zurückzuführen. Verschiedene Studien konnten zeigen, dass die Höhe der Basalrate des Cortisol vor der ACTH-Gabe einen entscheidenden Einfluss auf den Anstieg hat. Die Cortisol-Reserve der Nebennierenrinde ist durch die hohen Basalspiegel von ACTH und Cortisol am Morgen vermindert, die Ausschüttung als Reaktion auf exogenes ACTH daher geringer [Kukreja und Williams 1981, Dickstein et al. 1991]. Dies erklärt die in etwa gleichen absoluten Werte nach Gabe von ACTH, unabhängig von der Uhrzeit der Gabe, jedoch den relativ um ein vielfaches geringeren Anstieg am Morgen im Vergleich zum Abend. Die Ergebnisse dieser Studie bestätigen diese Untersuchungen.

Ebenfalls im Einklang mit Ergebnissen bei Gabe von exogenen Glukokortikoiden am Abend im Vergleich zu Gabe am Morgen ist in dieser Untersuchung der fehlende Anstieg des Cortisol am Morgen bei der Nacht-Gruppe. Es kann gezeigt werden dass auch die durch ACTH Stimulation hervorgerufene starke Ausschüttung von endogenem Cortisol eine stärkere Suppression der Nebennierenrinde am Morgen nach sich zieht.

4.2 Leukozyten

Bei den Leukozyten zeigt sich ebenfalls die bekannte Rhythmik mit Minimum am Morgen und Maximum am frühen Abend wie sie schon in anderen Studien dargestellt worden ist [Halberg 1980]. In dieser Untersuchung sind die Werte jedoch um ca. 2-3 Stunden im Vergleich zu anderen Untersuchungen zu späteren Uhrzeiten hin verschoben. Das Ergebnis bestätigt aber Untersuchungen die ebenso ein solche Verschiebung gefunden haben [Akbulut et al. 1999]. Insgesamt finden sich in der Literatur relativ starke Schwankungen bei den Ergebnissen der

Leukozyten-Rhythmik, die diese unterschiedlichen Ergebnisse erklären können.

Der Anstieg der Leukozyten beginnt in der 24-Stunden-Gruppe mit deutlicher zeitlicher Verzögerung zum Maximum des Cortisol. Auch nach ACTH-Gabe kommt es bei beiden stimulierten Gruppen erst etwa eine Stunde nach Beginn des Cortisolanstiegs auch zum Leukozytenanstieg. Auch andere Untersuchungen zeigen, dass auf einen Anstieg von endogenem Cortisol erst mit einer gewissen Latenz ein Anstieg der Leukozyten folgt [Mori et al. 2000]. Ein Maximum des Anstiegs als Reaktion auf das ACTH findet sich in beiden Gruppen nach drei Stunden. Andere Untersuchungen, welche die erste Messungen erst vier Stunden nach ACTH- bzw. Steroid-Gabe vornahmen, haben das Maximum der Leukozyten entsprechend immer bei vier Stunden angegeben [Fauci et al. 1976, Onsrud und Thorsby 1981].

Der Effekt der ACTH-Gabe ist nach Ende der Untersuchung (8 bzw. 10 Stunden nach ACTH) noch vorhanden, da sich die Werte nicht wieder vollständig den Werten der 24h-Gruppe annähern. Frühere Studien fanden eine Zeitspanne von 24 Stunden für das Ende der Cortisolwirkung [Fauci und Dale 1974], die sich mit dem in dieser Untersuchung gefundenen Ergebnis deckt.

Am Abend kommt es nach ACTH-Gabe wie oben beschrieben zu einem Anstieg der Leukozyten. Dieser ist jedoch im Vergleich zum nicht stimulierten Verlauf der Leukozyten der 24-Stunden-Gruppe nicht so ausgeprägt wie der Anstieg am Morgen. Dies ist wahrscheinlich auf das unterschiedliche Niveau der Leukozyten vor der ACTH-Gabe zurückzuführen und damit auf eine gewisse Ausschöpfung des Gesamt-Leukozytenpools in den Abendstunden. Der größere Anstieg des Cortisol in den Abendstunden würde eher einen stärkeren Einfluss erwarten lassen,

wie auch Studien zuvor mit exogen applizierten Glucocorticoiden gezeigt haben [Fauci 79]. Jedoch scheinen die Umverteilungsvorgänge [Fauci 1979, Smith et al. 1988], welche zu dem Anstieg der Leukozyten führen, quasi an einen Schwellenwert zu gelangen, ab dem trotz hoher Cortisolspiegel nur noch eine geringe Steigerung der Leukozyten erreicht wird. So bewirkt auch eine Steigerung von oralen Prednisolondosen über einen Wert von 20 mg hinaus keine weitere Steigerung der Leukozytenzahlen mehr [Dale et al. 1975]. Die Ergebnisse dieser Studie können also zeigen, dass auch beim endogenen Cortisol eine solche Schwelle erreicht wird, wie sie von der Gabe exogener Glucocorticoide bekannt ist.

4.3 Monozyten

Die Monozyten zeigen eine schwächere Tagesrhythmik mit deutlich mehr Schwankungen als die Leukozyten. Es findet sich ein Tiefstwert am Mittag und Höchstwert am frühen Morgen. Dieses ist entgegengesetzt zu anderen Studien, die Höchstwerte gegen 12 Uhr und Minima in der Nacht [Levi et al. 1985, Suzuki et al. 1997], oder gar keine Rhythmik gefunden hatten [Kronfol et al 1997]. Das Ergebnis ist jedoch konsistent mit Studien, die einen Anstieg der Monozyten in der Nacht feststellen konnten [Born et al 1997].

ACTH-Gabe führt zu einer Abnahme der Monozyten, besonders stark ist dieser Abfall in der Nacht-Gruppe. Der Abfall beginnt mit einer gewissen Verzögerung und erreicht sein Maximum nach ca. 4 Stunden. Dieses Ergebnis deckt sich mit Studien, in denen ein Abfall der Monozyten nach Glucocorticoidgabe festgestellt werden konnte [Webel et al. 1974, Fauci 1979].

Die Ergebnisse der 24h-Gruppe und der beiden stimulierten Gruppen zusammen ergeben in dieser Untersuchung ein einheitliches Bild. Der dem Cortisol entgegengesetzte Verlauf der nicht stimulierten Gruppe entspricht dem Abfall der Werte nach Stimulation durch ACTH. In diesem Zusammenhang scheint es wahrscheinlich, dass die Studien, die eine Rhythmik, wie sie hier gefundenen wurde nachweisen konnten [Born et al 1997], die tatsächliche Periodik der Monozyten dargestellt haben. Jedoch ist es auch durch starke Schwankungen erklärbar, dass Ergebnisse immer wieder verschieden sind.

Ob die stärkere Auswirkung der Stimulation der Nacht Gruppe auf die relative höhere Cortisolantwort nach ACTH oder die hohen Monozytenwerte vor Stimulation zurückzuführen ist, oder inwieweit eine Mischung dieser beiden Mechanismen vorliegt, kann nicht mit der hier benutzten Methode gesagt werden.

4.4 Granulozyten

Die Granulozyten haben morgens ihr Minimum um acht Uhr und steigen dann zum Maximum in der Nacht an. Der Verlauf entspricht dem der Leukozyten, ist jedoch um etwa zwei Stunden zu früheren Zeiten verschoben. Dieses Ergebnis liegt damit auf einer Linie mit Untersuchungen von Signore et al. [1985] und Caradente et al. [1988], aber nicht mit den Studien von Suzuki et al. oder Kronfol et al. [beide 1997], die entgegengesetzte oder gar keine Rhythmik bei den Granulozyten fanden.

Dem Cortisol läuft die Periodik der Granulozyten entgegen, was mit dem langsamen Ansprechen der Granulozyten auf das Cortisolniveau erklärt werden könnte. Auch nach exogener Glucocorticoidgabe dauert es mehrere Stunden bis zum Erreichen des Maximum der Granulozyten [Fauci et al. 76, Onsrud und Thorsby 1981].

Der Abfall der Granulozytenwerte verläuft über einen Zeitraum von 6-8 Stunden, während der Anstieg den gesamten Tag und Abend anhält. Das Minimum des Cortisolverlaufs liegt ca. 6 Stunden vor dem der Granulozyten, was den Zeitwerten aus oben angeführten Studien entspricht. Dies lässt auf einen Schwellenwert schließen, ab dem es zu einer relativen Granulozytose kommt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung lassen den Schwellenwert relativ nahe beim Cortisolminimum (2,69 µg/dl) bei etwa 8 µg/dl vermuten, weshalb es oberhalb der Wertes zum Anstieg der Granulozyten kommt, darunter aber zu einem Abfall. Der Cortisolspiegel befindet sich aber nur während einer Zeit von 6-8 Stunden unterhalb dieses Wertes, was erklären könnte, warum kein Gleichgewicht zwischen Anstieg und Abfall der Granulozyten über den Tag besteht.

Nach ACTH-Gabe kommt es daher, nach einer gewissen zeitlichen Verzögerung, zu einem deutlichen Ansprechen der Granulozyten auf das gestiegene Cortisol. In dieser Untersuchung wird der Gipfel der Granulozytenkurve schon nach 2-3 Stunden bei beiden Stimulationsgruppen erreicht, dies ist zeitlich vor anderen Untersuchungen [Onsrud und Thorsby 1981].

Der Anstieg ist in der Tag-Gruppe stärker ausgeprägt, der Unterschied zur Nacht-Gruppe jedoch nicht so deutlich wie bei den zuvor beschriebenen Leukozyten. Auch hier ist der stärkere Anstieg am Morgen wohl auf den niedrigen Ausgangswert der Granulozyten vor Stimulation zurückzuführen, da sich aufgrund des stärkeren Cortisolanstiegs nach ACTH-Gabe sonst eigentlich eine höhere Reaktion der Granulozyten am Abend zeigen müsste.

Auch nach Ende des Messzeitraumes, d.h. nach 8 bzw. 10 Stunden, ist keine Annäherung der Granulozyten an die Normalwerte der nicht stimulierten Gruppe erkennen. Andere Untersuchungen haben eine

Zeitspanne von bis zu 72 Stunden bis zur Normalisierung nach Glucocorticoidgabe festgestellt [Webel et al. 1974, Parillo und Fauci 1978].

Insgesamt lässt sich also sagen, dass die Untersuchung mit Stimulierung durch ACTH und Anstieg des endogenen Cortisol die Ergebnisse aus früheren Untersuchungen mit Gabe von exogenem Cortisol bestätigt. Nur die zeitliche Abfolge der Rhythmik wird in dieser Untersuchung durch die kürzeren Zeitabstände der Blutabnahmen besser und detaillierter dargestellt. Die Annahme, dass der Granulozytenanstieg nach 4 Stunden am stärksten ist kann auf einen früheren Zeitpunkt korrigiert werden.

4.5 Lymphozyten

Die Gruppe der gesamten Lymphozyten zeigt die bekannte Rhythmik mit tiefen Werten am Vormittag und hohen Werten in der Nacht und verhält sich damit entgegengesetzt zum Cortisol [Abo et al. 1981, Bertouch et al. 1983, Ritchie et al. 1983]. Lymphozyten reagieren auf Glucocorticoide mit einer Lymphopenie. Aus Versuchen ist eine Reaktionszeit von etwa 4 Stunden auf die Gabe von exogenen Glucocorticoiden bis zum Erreichen des Minimums bekannt [Fauci und Dale 1974].

Dieses Ergebnis findet sich durch Stimulation mit ACTH in dieser Studie bestätigt, wobei die Zeitspanne nach Gabe etwa 4-6 Stunden beträgt, die Zeitspanne nach Erreichen des Cortisolmaximum nur ca. 2-3 Stunden. Der Unterschied kann durch das verschieden schnelle Anfluten der Glucocorticoide durch i.v.-Administration von einerseits Glucocorticoiden direkt bzw. andererseits ACTH erklärt werden. Die Werte erreichen nach 8 bis 10 Stunden fast oder vollständig die Werte der nicht stimulierten Gruppe, was mit Untersuchungen übereinstimmt, die sogar ein Reboundphänomen nach 24 Stunden beobachtet haben [Onsrud und Thorsby 1981].

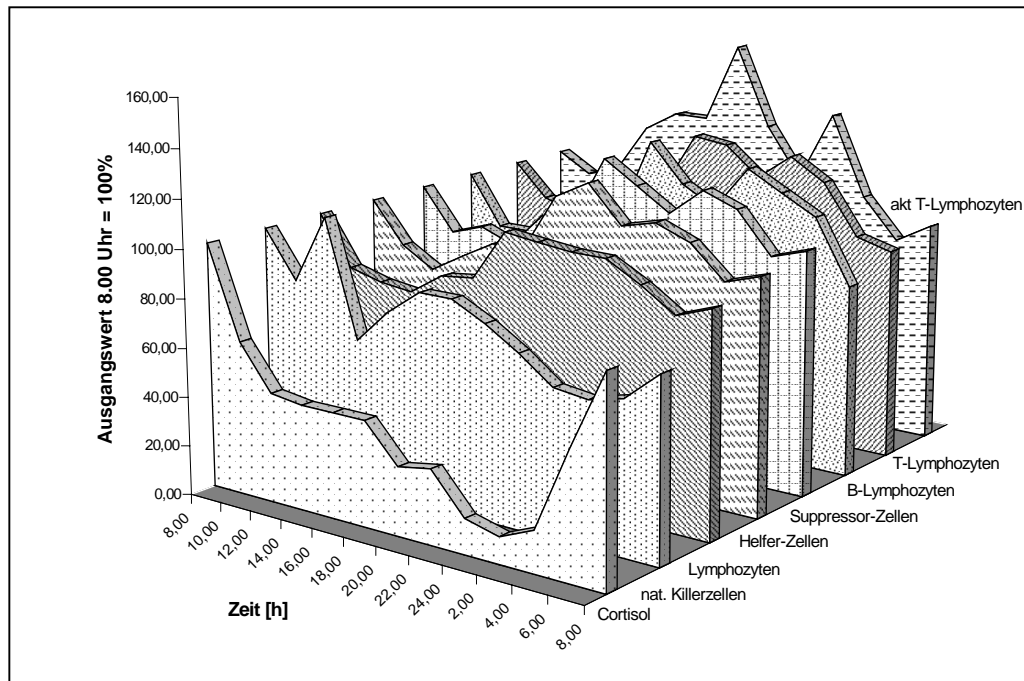
Weiterhin zeigt der ACTH-Test bei Stimulation am Abend, d.h. bei Vorliegen einer relativen Lymphozytose im Vergleich zum Morgen, eine deutlich stärkere Reaktion auf die Gabe des ACTH. Hierfür sind wahrscheinlich wieder zwei Gründe verantwortlich zu machen. Zum einen das Vorliegen der schon erwähnten höheren Lymphozytenwerte am Abend, obwohl der Vergleich der Werte zur ACTH-Gabe (acht Uhr morgens und abends) nicht so große Unterschiede zeigt wie bei Leukozyten oder Granulozyten.

Zum anderen: die deutliche Reaktion des Cortisol auf das ACTH in der Nacht mit der höheren Amplitude des Anstiegs hat eine entsprechend deutlichere Auswirkung auf die Lymphozyten zur Folge. Dieses deckt sich wiederum mit den oben angeführten Studien zur Reaktion auf Glucocorticoide. Es kann also gezeigt werden das endogene Cortisolsteigerungen durch Stimulierung mit ACTH gleiche Auswirkungen haben wie in bisherigen Untersuchung mit exogener Cortisolgabe gefundene Ergebnisse.

4.6 Lymphozyten Subpopulationen

Die Untergruppen der Lymphozyten zeigen in dieser Untersuchung fast alle das bei den Lymphozyten beschriebene Bild, jedoch in unterschiedlichen Variationen. Ausnahme hierbei sind die NK-Zellen, die deshalb einzeln besprochen werden (siehe Abb. 4-1).

Abbildung 4-1: Tagesverläufe der Lymphozyten-Subpopulationen im Vergleich zum Cortisol, 8.00 = 100%



4.6.1 T-, B- und aktivierte T-Lymphozyten

Ein praktisch gleicher genereller Verlauf wie bei den Lymphozyten zeigt sich bei der Subpopulation der T- und B-Zellen. Es zeigt sich jedoch ein zweigipfeliges Maximum das bei den Lymphozyten so nicht vorkommt. Die aktivierten T-Lymphozyten zeigen dieses gesplitterte Maximum deutlich stärker ausgeprägt als die T- und B-Lymphozyten. In der Literatur beschrieben wird eine solche ausgeprägte Konfiguration der Tagesrhythmik kaum, nur in einer Studie konnte eine solche Beobachtung in den Graphiken gefunden werden, obwohl sie im Text nicht weiter kommentiert wurde [Ritchie et al. 1983]. Es ist jedoch kein einzelner Proband mit starken Ausreißerwerten für diesen Verlauf verantwortlich zu machen. Eine Begründung für das Nicht-Vorhandensein weiterer Beschreibungen dieser Rhythmik ist die Tatsache dass viele Untersuchungen sich auf Messungen

im vier Stunden Abstand mit Messzeitpunkten um 0.00 Uhr und 4.00 Uhr beschränken. Bei dieser Methodik wird natürlich eine Fluktuation zwischen Mitternacht und vier Uhr wie in diesem Fall beschrieben nicht wahrgenommen.

Der Abfall der Zellzahl als Reaktion auf ACTH entspricht dem in anderen Studien gefundenen Verhalten nach Gabe von exogenen Glucocorticoiden [Fauci 1975]. Der in der angeführten Untersuchung festgestellte stärkere Abfall von T-Lymphozyten nach Glucocorticoidgabe lässt sich nur teilweise in dieser Studie durch Stimulation des endogenen Cortisol bestätigen. Am Tag kommt es tatsächlich zu einem stärkeren Abfall der Werte der T-Lymphozyten als bei den B-Lymphozyten zu beobachten. Bei dem aktivierten T-Lymphozyten ist dieser Abfall im Mittelfeld zwischen den anderen beiden Parametern abgesiedelt.

Bei Stimulation in der Nacht jedoch kommt es zu einer anderen Ausprägung. Hier fallen die aktivierten T-Lymphozyten am stärksten ab, gefolgt von den B-Lymphozyten. Die T-Lymphozyten haben hier den schwächsten Abfall im Vergleich zum Ausgangswert.

Im Vergleich zur nicht stimulierten Gruppe kommt es bei allen drei Zelltypen zu einem deutlich stärkeren Abfall der Werte nach ACTH-Gabe in der Nacht als am Tag. Dies muss wieder auf schon weiter oben angeführte Gründe zurückgeführt werden. Zum einen ist auch bei diesen Gruppen auf Grund ihres Nachtrhythmus die Ausgangszellzahl vor Stimulation am Abend höher, wodurch ein stärkerer Abfall möglich wird, zum anderen ist der Anstieg des Cortisol deutlich stärker. Hierdurch werden die von Fauci [Fauci 1975] und anderen beschriebenen Umverteilungsvorgänge am Abend besser ermöglicht. Insgesamt werden also durch endogenes Cortisol Umverteilungsvorgänge in einer Form

beeinflusst wie sie auch von Studien mit exogener Gabe von Glucocorticoiden bekannt sind.

4.6.2 Helfer- und Suppressor-Zellen

Der Verlauf der Helfer- und Suppressor-Zellen unterscheidet sich kaum von dem Verlauf der oben angeführten anderen Subpopulationen der Lymphozyten. Auch hier ist das bekannte Minimum am Morgen und ein Doppelmaximum am Abend vorhanden [Bertouch et al. 1983, Richtie et al. 1983].

Die Stimulation mit ACTH erbringt aber deutliche Unterschiede im Verhalten der beiden Zelltypen zu Tage. Während die Helfer-Zellen mit einem deutlichen Abfall der Werte als Reaktion auf den ACTH induzierten Cortisolanstieg sowohl am Morgen als auch am Abend reagieren, kommt es bei den Suppressor-Zellen nur zu einem minimalen Absinken der Werte nach der ACTH-Gabe am Morgen (Kapitel 3.10). Ein ähnliches Ergebnis ist auch in anderen Untersuchungen gefunden worden [Boss 1997].

Am Abend reagieren die Suppressor-Zellen ebenfalls mit einem kräftigen Abfall, wie die anderen Lymphozyten-Subpopulationen, was in der vorliegenden Literatur bisher nicht so beschrieben wurde. Eine Erklärung hierfür könnte ein höherer Schwellenwert beim Cortisol sein [Osterhuis et al. 1987], der am Abend erreicht wird und daher zu dem kräftigen Abfall führt. Zusätzlich ist abends ein höherer Ausgangswert der Suppressor-Zellen vorhanden was, wie schon bei den vorherigen Zelltypen beschrieben, ebenfalls die Reaktionsfähigkeit des Zellpools zur Umverteilung erhöht.

4.7 Natürliche Killer-Zellen

Die natürlichen Killer-Zellen bilden als einzige Untergruppe der Lymphozyten ein komplett gegensätzliches Bild und damit eine Rhythmik die eher dem Cortisol angepasst verläuft. Sie zeigen einen Tagesverlauf mit morgens hohen Werten und tiefen Werten in der Nacht [Kronfol et al. 1997, Suzuki et al. 1997]. Ebenfalls die starke Schwankung am Morgen kann in anderen Studien [Kronfol et al. 1997] wiedergefunden werden. Interessanter Weise wird in der genannten Studie eine Rhythmik nur für die prozentuale natürlichen Killer-Zellen (also der prozentuale Anteil der Zellen am Gesamtlymphozytenpool) gefunden nicht jedoch für die absoluten Zahlen. In dieser Studie scheint jedoch durchaus eine eigene Rhythmik der natürliche Killerzellen vorzuliegen, die jedoch mit dem Cortisol verläuft und nicht entgegengesetzt wie die anderen Lymphozyten Sub-Populationen.

In Untersuchungen mit exogener Glucocorticoidgabe wurde beschrieben, dass die natürlichen Killerzellen mit einem Abfall reagieren, der jedoch nur von relativ kurzer Dauer ist und später sogar ein verstärkter Anstieg festgestellt werden kann [Boss 1997]. Ein solches Ergebnis ist auch hier durch endogene Erhöhung des Cortisolspiegels festzustellen. Auf die ACTH-Gabe kommt es sowohl in der Nacht als auch am Tage zu einer Verminderung der Werte gegenüber der nicht stimulierten Gruppe. Die Reduktion der Zellzahl hält jedoch nur zwei bis vier Stunden an und führt zum Ende der Messung hin sogar zu, wie in einem Rebound-Phänomen, im Vergleich höheren Werten als bei der nicht stimulierten Gruppe.

Wodurch dieser Rebound ausgelöst wird kann hier nicht geklärt werden, aber die Studie zeigt das die Gabe von exogenen Glucocorticoiden und eine endogene Erhöhung des Cortisol zu gleichgerichteten Ergebnissen führt.

4.8 Homing

Die in dieser Studie angewendete Methodik lässt keine direkte Aussage über Mechanismen oder Ursachen der Umverteilungsmechanismen der einzelnen Zelltypen zu. Die Ergebnisse fügen sich jedoch mit denen anderer Untersuchungen und der extensiven Literatur zu den Grundlagen des Homing zu einem Bild zusammen.

Wenn auch nicht genau geklärt ist wie es zu dem Einfluss kommt, weißt auch diese Studie durch die starken Zusammenhänge wieder auf den großen Einfluss des Cortisol beim Homing hin. Der Einfluss kommt wahrscheinlich nicht durch direkte Interaktion des Cortisol mit den Zellen zustande, sondern scheint eher den „Umweg“ über verschieden Mittler zu gehen.

In vielen Studien wird immer wieder auf den Einfluss von Cortisol auf die unterschiedlichen Immunmodulatoren hingewiesen. Vor allem die Zytokine sind häufig untersucht worden, mit dem Ergebnis einer klaren Abhängigkeit vom Cortisol. Es besteht ein physiologischer komplexer Rückkoppelungsmechanismus, der die Regelung der Ausschüttung von Cortisol und verschiedenen Zytokinen beeinflusst.

Das von Makrophagen freigesetzte IL-1 steigert so die Abgabe von CRF, was über ACTH zur Ausschüttung von Cortisol führt. Dies vermindert wiederum die Abgabe von IL-1. Cortisol hat allerdings nicht nur einen Einfluss auf IL-1, sondern auf verschiedenste andere Modulatoren [Palm et al. 1996]. Insbesondere bei Entzündungsvorgängen führt dieses Feedback zu einer Regulation und vermindert somit ein Überschießen der Reaktion. Durch diesen Mechanismus kann auch zu einem Teil die Wirkung von Glucocorticoiden bei Entzündungen erklärt werden.

Durch diesen Steuerungsmechanismus haben Glucocorticoide auch einen Einfluss auf Adhäsionsmoleküle, da z.B. das für den ersten Schritt des Auswanderungsvorgangs mit zuständige E-Selektin erst nach Aktivierung durch Zytokine wie IL-1 und TFN- α exprimiert wird [Bevilacqua et al. 1987].

Auch andere Studien konnten diese Verknüpfung von Cortisol, Zytokinen und Verhalten von verschiedenen Zelltypen aufzeigen. IL-1, IL-3, IL-4 und TFN- α regulieren Adhäsionsmoleküle, Glucocorticoide führen zu einer Verminderung von E-Selektin, VCAM-1 und ICAM-1 [Salmi und Jalkanen 1997]. Dieses lässt sich durch die oben schon beschriebene notwendige Aktivierung der Zellen zur Exprimierung der Adhäsionsmoleküle durch Immunmodulatoren erklären.

Nicht nur Glucocorticoide, sondern auch Gold und Salizylate scheinen diesen Wirkmechanismus zu haben [Salmi und Jalkanen 1997]. Hughes et al [1996] konnte zur weiteren Verdeutlichung zeigen, das Cortisol den oben erwähnten Einfluss auf Zytokine besitzt, aber eben keinen direkten Einfluss auf Adhäsionsmoleküle auf Helfer-Zellen hat.

Palm et al. [1996] konnte eine dem endogenen Cortisol entgegen laufende in vitro Freisetzung von IL-2 zeigen und schloss somit ebenfalls auf eine Steuerung der Lymphozyten Rezirkulation durch Cortisol.

In Tierexperimenten konnte nachgewiesen werden, dass die circadiane Rhythmik des Cortisol die Interaktion zwischen Leukozyten und Endothel verändert. Bei hohen Cortisolwerten wurden hohe Zahlen an am Endothel haftenden Zellen gefunden und bei niedrigen Werten entsprechend weniger. Die exzessive Gabe von Glucocorticoiden und die Adrenalektomie hoben den Rhythmus auf [House et al. 1997].

Insgesamt ist die komplizierte Steuerung des Homing in den verschiedenen Stadien (normaler Rhythmus, Entzündung, Stress, etc.) noch nicht geklärt, jedoch zeigt sich weiterhin eine deutliche Beteiligung des Cortisol an diesen Vorgängen.

Diese Untersuchung kann nur in einem geringen Teil zu Klärung der komplexen Vorgänge des Homing beitragen, zeigt aber die Wichtigkeit von endogenen Cortisol in diesem Steuerungskreislauf durch die Bestätigung das die in bisherigen Untersuchungen durch exogene Gabe von Glucocorticoiden gewonnen Ergebnisse in weitesten Teilen auch durch eine Erhöhung des endogenen Cortisol erzielt werden.

5 Zusammenfassung

Die vorliegende Studie untersucht den Einfluss von endogenem Cortisol auf die Rhythmik verschiedener immunologischer Zellen. Untersucht wurden folgende Parameter: Cortisol, Lymphozyten, Granulozyten, Monozyten, T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Helfer-Zellen, Suppressor-Zellen, aktivierte T-Zellen, natürliche Killer-Zellen.

Das Studiendesign wurde so entworfen, das eine Beurteilung der Zellen und ihrer Rhythmik in Relation zum endogenen Cortisol während einer normalen 24-Stunden-Periodik und unter Stimulation mit ACTH untersucht werden konnte. Die Stimulierung wurde zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten (8.00 Uhr morgens, 20.00 abends) vorgenommen um eine bessere Aussage über den eventuellen Einfluss des endogenen Cortisol machen zu können.

Die gefundene Tagesrhythmik der Zellen und des Cortisol entspricht den in der Literatur angegebenen Ergebnissen. Cortisol zeigt eine 24-Stunden Rhythmik mit Maximum am Morgen und Minimum in der Nacht. Fast alle untersuchten Zelltypen weisen einen zum Cortisol gegenläufigen Rhythmus auf. Besonders hervorzuheben sind hier die natürlichen Killer-Zellen, die, entgegen den anderen Lymphozyten-Subpopulationen, einen Rhythmus aufweisen, der ähnlich dem des Cortisol ist.

Stimulation mit ACTH führt bei verschiedenen Zellen zu einer unterschiedlich starken Reaktion am Morgen und in der Nacht. Dies ist wohl auf zwei Parameter zurückzuführen. Zum einen auf die ebenfalls stärkere Reaktion des Cortisol auf die ACTH-Gabe am Abend, die als Folge des geringeren Ausgangswertes des Cortisol zustande kommt. Zum anderen auf das unterschiedliche Niveau der Zellen vor Stimulation, die in

den meisten Fällen deutlich höhere Werte am Abend aufweisen und daher eine größere Reaktionsfähigkeit zur Umverteilung.

Mit den Daten aus dieser Untersuchung werden die in anderen Studien mit exogener Gabe von Glucocorticoiden gefundenen Ergebnisse bestätigt. Es zeigt sich das auch eine Erhöhung des endogenen Cortisol gleichgerichtete Ergebnisse zeigt.

In Verbindung zu den bekannten Ergebnissen aus der Literatur wird damit der starke Einfluss des Cortisol auf das Verhalten der einzelnen Zellen deutlich. Der genaue Mechanismus der Interaktion zwischen Cortisol, Zytokinen, Adhäsionsmolekülen und Zellen ist bisher nicht klar, jedoch scheint Cortisol auf verschiedenen Ebenen in die Regulation des Homing einzugreifen. Genauere Untersuchungen hierzu sind aber noch notwendig um das komplizierte Geflecht der Beziehungen zu verstehen.

6 Literaturverzeichnis

- Abo K, Kawate T, Itoh K, Kumagai K. Studies on the bioperiodicity of the immune response. *J Immunol* 1981; 126: 1360-8.
- Adams DH, Harvath L, Bottaro DP, Interrante R, Catalano G, Tanaka Y, et al. Hepatocyte growth factor and macrophage inflammatory protein 1 beta: structurally distinct cytokines that induce rapid cytoskeletal changes and subset-preferential migration in T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 7144-8.
- Akbulut H, Icli F, Büyükcelik A, Akbulut KG, Demirci S. The role of granulocyte-macrophage-colony stimulating factor, cortisol, and melatonin in the regulation of the circadian rhythms peripheral blood cells in healthy volunteers and patients with breast cancer. *J Pineal Res* 1999; 26: 1-8.
- Alon R, Kassner PD, Carr MW, Finger EB, Hemler ME, Springer TA. The integrin VLA-4 supports tethering and rolling in flow on VCAM-1. *J Cell Biol* 1995; 128: 1243-53.
- Anderson DC, Springer TA. Leukocyte adhesion deficiency: an inherited defect in the Mac-1, LFA-1, and p150,95 glycoproteins. *Annu Rev Med* 1987; 38: 175-94.
- Arbones ML, Ord DC, Ley K, Ratech H, Maynard-Curry C, Otten G, et al. Lymphocyte homing and leukocyte rolling and migration are impaired in L-selectin-deficient mice, *Immunity* 1994; 1: 247-60.
- Austrup F, Vestweber D, Borges E, Lohning M, Brauer R, Herz U, et al. P- and P-selectin mediate recruitment of T-helper-1 but not T-helper-2 cells into inflamed tissues. *Nature* 1997; 385: 81-3.
- Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human chemokines: an up-date. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 675-705.
- Baggiolini M. Chemokines and leukocyte traffic. *Nature* 1998; 392: 565-8.
- Baggiolini M. Chemokines in pathology and medicine. *J Intern Med*. 2001; 250(2): 91-104.
- Bargatze RF, Butcher EC. Rapid G protein-regulated activation event involved in lymphocyte binding to high endothelial venules. *J Exp Med* 1993; 178: 367-72.
- Bargatze RE, Jutila MA, Butcher PC. Distinct roles of L-selectin and integrins alpha 4 beta 7 and LFA-1 in lymphocyte homing to Peyer's patch-HEV in situ: the multistep model confirmed and refined. *Immunity* 1995; 3: 99-108.

- Bauer ME, Papadopoulos A, Poon L, Perks P, Lightman SL, Checkley S, Shanks N. Dexamethasone-induced effects on lymphocyte distribution and expression of adhesion molecules in treatment-resistant depression. *Psychiatry Res.* 2002; 113(1-2): 1-15.
- Baum J, Ziff M. Laboratory findings in rheumatoid arthritis: hematologic studies. Aus McCarty DJ. (Ed) *Arthritis in allied conditions.* Lea&Febiger 1985.
- Baumhater S, Singer MS, Henzel W, Hemmerich S, Renz M, Rosen SD, et al. Binding of L-selectin to the vascular Sialomucin CD34. *Science* 1993; 262: 436–8.
- Berg EL, Yoshino T, Rott LS, Robinson MK, Warnock RA, Kishi-moto TK, et al. The cutaneous lymphocyte antigen is a skin lymphocyte homing receptor for the vascular lectin endothelial cell-leukocyte adhesion molecule 1. *J Exp Med* 1991; 174: 1461–6.
- Berg EL, McEvoy LM, Berlin C, Bargatze RF, Butcher EC. L-selectin- mediated lymphocyte rolling on MAdCAM-1 [see comments]. *Nature* 1993; 366: 695–8.
- Berg EL, Mullowney AT, Andrew DP, Goldberg JE, Butcher EC. Complexity and differential expression of carbohydrate epitopes associated with L-selectin recognition of high endothelial venules. *Am J Pathol* 1998; 152: 469–77.
- Berlin C, Berg EL, Briskin MJ, Andrew DP, Kilshaw PJ, Holzmann B, et al. Alpha 4 beta 7 integrin mediates lymphocyte binding to the mucosal vascular addressin MAdCAM-1. *Cell* 1993; 74: 185–5.
- Bertouch JV, Thomson PJR, Bradly J. Diurnal variations of lymphocyte subsets identified by monoclonal antibodies. *Br Med J* 1983; 286: 1171-2.
- Bethge H, Wiegelman W, Zimmermann H. Nebennierenrindenfunktion unter Depot-Corticoiden. *Dtsch Med Wschr* 1972; 97: 650-6.
- Bevilacqua MP, Pober JS, Mendrick DL, Cotran RS, Gimbrone MA Jr. Identification of an inducible endothelial-leukocyte adhesion molecule. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 9238–42.
- Bevilacqua MP, Nelson RM. Selectins. *J Clin Invest* 1993; 91: 379–87.
- Bianchi E, Bender JR, Blasi F, Pardi R. Through and beyond the wall: late steps in leukocyte transendothelial migration. *Immunol Today* 1997; 18: 586–91.

- Borges E, Tietz W, Steegmaier M, Moll T, Hallmann R, Hamann A, et al. P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) on T helper 1 but not on T helper 2 cells binds to P-selectin and supports migration into inflamed skin. *J Exp Med* 1997; 185: 573–8.
- Born J, Lange T, Hansen K, Mölle M, Fehm HL. Effects of sleep and circadian rhythm on human circulating immune cells. *J Immunol* 1997; 158: 4454–64.
- Boss B. Kurzfristige Einflüsse von Prednisolon auf Zytokine, immunkompetente Zellen und Aktivitätsparameter sowie endogens Cortisol bei rheumatoider Arthritis. Inaugural Dissertation 1997; Fachverlag Köhler: ISBN 3-922306-53-5.
- Burastero SE, Rossi GA, Crimi E. Selective differences in the expression of the homing receptors of helper lymphocyte subsets. *Clin Immunol Immunopath* 1998; 89: 110–6.
- Butcher EC. Leukocyte-endothelial cell recognition: three steps to specificity and diversity. *Cell* 1991; 67: 1033–6.
- Butcher EC, Williams M, Youngman K, Rott L, and Briskin M. Lymphocyte trafficking and regional immunity. *Adv Immunol.* 1999; 72: 209–253.
- Campbell JJ, Butcher EC. Chemokines in tissue-specific and microenvironment-specific lymphocyte homing. *Curr Opin Immunol.* 2000; 12: 336–41.
- Campbell JJ, Butcher EC. Intestinal attraction: CCL25 functions in effector lymphocyte recruitment to the small intestine. *J Clin Invest.* 2002; 110 (8): 1079–1081
- Carandente F, Angeli A, de Vecchi A, Dammacco F, Halberg F. Multifrequency rhythms of immunological functions. *Chronobiologia* 1988; 15: 7–23.
- Carli G, Bonifazi M, Lodi L, Lupo C, Martelli G, Viti A. Changes in the exercise-induced hormone response to branched chain amino acid administration. *Eur J Appl Physiol* 1992; 64(3): 272–77.
- Carr MW, Roth SJ, Luther F, Rose SS, Springer TA. Monocyte chemoattractant protein 1 acts as a T-lymphocyte chemoattractant. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3652–6.
- Cepek KL, Parker CM, Madara JL, Brenner MB. Integrin alpha E beta 7 mediates adhesion of T lymphocytes to epithelial cells, *J Immunol* 1993; 150: 3459–70.
- Cepek KL, Shaw SK, Parker CM, Russell GJ, Morrow JS, Rimm DL, et al. Adhesion between epithelial cells and T lymphocytes mediated by E-cadherin and the alpha E beta 7 integrin. *Nature* 1994; 372: 190–3.

- Cerf-Bensussan N, Jarry A, Brousse N, Lisowska-Grospierre B, Guy-Grand D, Griscelli C. A monoclonal antibody (HML-1) de-fining a novel membrane molecule present on human intestinal lymphocytes. *Eur J Immunol* 1987; 17: 1279–85.
- Chavakis T, Hussain M, Kanse SM, Peters G, Bretzel RG, Flock JI, Herrmann M, Preissner KT. Staphylococcus aureus extracellular adherence protein serves as anti-inflammatory factor by inhibiting the recruitment of host leukocytes. *Nat Med.* 2002; 8(7): 687-93.
- Dale D, Fauci AS, Guerry DP, Wolff SM. Comparison of agents producing a neutrophil leucocytosis in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1975; 15: 808-13.
- De Fougerolles AR, Springer TA. Intercellular adhesion molecule 3, a third adhesion counter-receptor for lymphocyte function-associated molecule 1 on resting lymphocytes. *J Exp Med* 1992; 175: 185–90.
- De Nicola P, Casale G, Ricotti MP, Caronna P. Circadian rhythms of blood components in dementia senilis. *Folia Haema* 1984; 11: 782-7.
- Deprés-Brummer P, Bourin P, Pages N, Metzger G, Levi F. Persistent T lymphocyte rhythms despite suppressed circadian clock outputs in rats. *Am J Physiol* 1997; 273: 1891-9.
- Detmers PA, Lo SK, Olsen-Egbert E, Walz A, Baggiolini M, Cohn ZA. Neutrophil-activating protein1/interleukin B stimulates the binding activity of the leukocyte adhesion receptor CD11b/CD18 on human neutrophils. *J Exp Med* 1990; 171: 1155–62.
- Dickstein G, Shechner C, Nicholson WE, Rosner I, et al. Adrenocorticotropin stimulation test: Effects of basal cortisol level, time of day, and suggested new sensitive low dose test. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72: 773-8.
- Doerschuk CM, Tasaka S, Wang Q. CD11/CD18-dependent and -independent neutrophil emigration in the lungs. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2000; 23,2: 133-136.
- Drilenburg P, Pals ST. Cell adhesion receptors in lymphoma dissemination. *Blood* 2000; 95: 1900-10.
- Dunon D, Piali L, Imhof BA. To stick or not to stick: the new leukocyte homing paradigm. *Curr Opin Cell Biol* 1996; 8: 714–23.

- Dustin ML, Springer TA. T-cell receptor cross-linking transiently stimulates adhesiveness through LFA-1. *Nature* 1989; 341: 619–24.
- Ebnet K, Kaldjian EP, Anderson AO, Shaw S. Orchestrated in-formation transfer underlying leukocyte endothelial interactions. *Annu Rev Immunol* 1996; 14: 155–77.
- Elices MJ, Osborn L, Takada Y, Crouse C, Luhowskyj S, Hemler ME, et al. VCAM-1 on activated endothelium interacts with the leukocyte integrin VLA-4 at a site distinct from the VLA-4/ fibronectin binding site. *Cell* 1990; 60: 577–84.
- Elmadjian F, Pincus G. A study of the diurnal variations in circulating lymphocytes in normal and psychotic subjects. *J Clin Endocrinol* 1946; 6: 287.
- Fauci AS, Dale DC. The effect of in vivo hydrocortisone on subpopulations of human lymphocytes. *J Clin Invest* 1974; 53: 240-6.
- Fauci AS. Mechanisms of corticosteroid action on lymphocyte subpopulations: I. Redistribution of circulating T and B lymphocytes to the bone marrow. *Immunology* 1975; 28: 669-80.
- Fauci AS. Human bone marrow lymphocytes: I. Distribution of lymphocyte subpopulations in the bone marrow of normal individuals. *J Clin Invest* 1975; 56: 98-110.
- Fauci AS, Dale DC, Balow JE. Glucocorticosteroid therapy: mechanism of action and clinical considerations. *A Int Med* 1976; 84: 304-15.
- Fauci AS. Immunosuppressive and anti-inflammatory effect of glucocorticoids. Aus Baxter J, Rousseau G. (Eds) *Glucocorticoid Hormone Action*. Springer 1979.
- Finger EB, Pun KD, Alon R, Lawrence MB, von Andrian UH, Springer TA. Adhesion through L-selectin requires a threshold hydrodynamic shear. *Nature* 1996; 379: 266–9.
- Fischer A, Lisowska-Grospierre B, Anderson DC, Springer TA. Leukocyte adhesion deficiency: molecular basis and functional consequences. *Immunodef Rev* 1988; 1: 39–54.
- Gallatin WM, Weissman IL, Butcher EC. A cell-surface molecule involved in organ-specific homing of lymphocytes. *Nature* 1983; 304: 30–4.
- Gangur V, Birmingham NP, Thanavorakul S. Chemokines in health and disease. *Vet Immunol Immunopathol*. 2002; 86(3-4): 127-36.

- Halberg F. Implications of biologic rhythms for clinical practice. Aus Krieger DR, Hughes JC. (Eds) *Neuroendocrinology: The interrelationships of the body's two major integrative systems – in normal physiology and clinical disease*. Sunderland 1980.
- Heinz A, Hermann D, Smolka MN, Rieks M, Graf KJ, Pohlau D, Kuhn W, Bauer M. Effects of acute psychological stress on adhesion molecules, interleukins and sex hormones: implications for coronary heart disease. *Psychopharmacology (Berl)*. 2003; 165(2): 111-7. Epub 2002.
- Heydtmann M, Adams DH. Understanding selective trafficking of lymphocyte subsets. *Gut* 2002; 50: 150-152.
- Higgins JM, Mandlebrot DA, Shaw SK, Russell GJ, Murphy EA, Chen YT, et al. Direct and regulated interaction of integrin alpha-Ebeta7 with E-cadherin. *J Cell Biol* 1998; 140: 197–210.
- Hwang ST, Singer MS, Giblin PA, Yednock TA, Bacon KB, Simon SI, et al. GlyCAM-1, a physiologic ligand for L-selectin, activates beta 2 integrins on naive peripheral lymphocytes. *J Exp Med* 1996; 184: 1343–8.
- Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in Cell adhesion. *Cell* 1992; 69: 11–25.
- Irjalaa H, Johanssona EL, Grenmanb R, Alanenc K, Salmia M, Jalkanena S. Mannose receptor is a novel ligand for L-Selectin and mediates lymphocyte binding to lymphatic endothelium. *J Exp. Med* 2001; 194,8: 1033-1042.
- Irjala H, Elima K, Johansson EL, Merinen M, Kontula K, Alanen K, Grenman R, Salmi M, Jalkanen S. The same endothelial receptor controls lymphocyte traffic both in vascular and lymphatic vessels. *Eur J Immunol*. 2003; 33(3): 815-24.
- Irjala H, Alanen K, Grenman R, Heikkila P, Joensuu H, Jalkanen S. Mannose receptor (MR) and common lymphatic endothelial and vascular endothelial receptor (CLEVER)-1 direct the binding of cancer cells to the lymph vessel endothelium. *Cancer Res*. 2003; 1, 63(15): 4671-6.
- Issekutz TB. Dual inhibition of VLA-4 and LFA-1 maximally in-hibits cutaneous delayed-type hypersensitivity-induced inflammation. *Am J Pathol* 1993; 143: 1286–93.

- Kakinuma T, Saeki H, Tsunemi Y, Fujita H, Asano N, Mitsui H, Tada Y, Wakugawa M, Watanabe T, Torii H, Komine M, Asahina A, Nakamura K, Tamaki K. Increased serum cutaneous T cell-attracting chemokine (CCL27) levels in patients with atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111(3): 592-7.
- Kasper S, Sack DA, Wehr TA. Chronobiologie und Chronopharmakologie. Aktuelle Psychiatrie 1989; 7.
- Kim CH, Broxmeyer HE. Chemokines: signal lamps for trafficking of T and B cells for development and effector function. *J. Leukoc. Biol.* 1999; 65: 6-15
- Kirkham BW, Panayi GS. Diurnal periodicity of Cortisol secretion, immune reactivity and disease activity in rheumatoid arthritis: implications for steroid treatment. *Br J Rheuma* 1989; 28: 154-7.
- Kleine TO, Hacker R, Raffael A. Differenzierung von Leukozytenuntergruppen mittels der direkten Zweifarbenfluoreszenz im lysierten Vollblut. In: Schmitz G, Rothe G. Durchflusszytometrie in der klinischen Zelldiagnostik. Schattauer, Stuttgart 1994; 217-28.
- Kraal G, Mebius RE. High endothelial venules: Lymphocyte traffic control and controlled traffic. *Adv Immunol* 1997; 65: 347-95.
- Krieger DT, Allen W, Rizzo F, Krieger HP. Characterisation of the normal temporal pattern of plasma corticosteroid levels. *J Clin Endocrin Metab* 1971; 32: 266-84.
- Krieger DT. Rhythms in CRF, ACTH and corticosteroids. Aus Krieger DT. (Ed) *Endocrine Rhythms* 1979; Raven Press.
- Kronfol Z, Madhavan N, Zhang Q, Hill EE, Brown MB. Circadian immune measures in healthy volunteers: Relationship to hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormones and sympathetic neurotransmitters. *Psycho Med* 1997; 59: 42-50.
- Kucik DF, Dustin ML, Miller JM, Brown EJ. Adhesion-activating phorbol ester increases the mobility of leukocyte integrin LFA-1 in cultured lymphocytes. *J Clin Invest* 1996; 97: 2139-44.
- Kukreja SC, Williams GA. Corticotrophin stimulation test: Inverse correlation between basal serum cortisol and its response to corticotrophin. *Acta Endocrinologica* 1981; 97: 522-24.

- Kunkel EJ, Campbell JJ, Haraldsen G, Pan J, Boisvert J, Roberts AI, Ebert EC, Vierra MA, Goodman SB, Genovese MC, Wardlaw AJ, Greenberg HB, Parker CM, Butcher EC, Andrew DP, and Agace WW. Lymphocyte CC chemokine receptor 9 and epithelial thymus-expressed chemokine (TECK) expression distinguish the small intestinal immune compartment: epithelial expression of tissue-specific chemokines as an organizing principle in regional immunity. *J Exp Med* 2000; 192: 761-768.
- Labhard A. (Ed). *Klinik der inneren Sekretion*. Springer 1978.
- Lasky LA, Singer MS, Dowbenko D, Imai Y, Henzel WJ, Grimley C, et al. An endothelial ligand for L-selectin is a novel mucin-like molecule. *Cell* 1992; 69: 927–38.
- Lawrence MB, Berg PL, Butcher EC, Springer TA. Rolling of lymphocytes and neutrophils on peripheral node addressin and subsequent arrest on ICAM-1 in shear flow. *Eur J Immunol* 1995; 25: 1025–31.
- Levi FA, Canon C, Blum JP, Reinberg A, Mathé G. Large-amplitude circadian rhythm in helper, suppressor ratio of peripheral blood lymphocytes. *Lancet* 1983; ii: 462.
- Levi FA, Canon C, Blum JP, Mechkouri M. Circadian and/or circahemidian rhythms in nine lymphocyte-related variables from peripheral blood of healthy subjects. *J Immunol* 1985; 134: 217-22.
- Levi FA, Canon C, Touitou Y, Sulon J, Mechkouri M, Demey Ponsart E, et al. Circadian rhythms in circulating T lymphocyte subtypes and plasma testosterone, total and free cortisol in five healthy men. *Clin Exp Immunol* 1988; 71: 329-35.
- Lewinsohn DM, Bargatze RF, Butcher EC. Leukocyte-endothelial cell recognition: evidence of a common molecular mechanism shared by neutrophils, lymphocytes, and ether leukocytes. *J Immunol* 1987; 138: 4313–21.
- Lollo BA, Chan KW, Hanson EM, Moy VT, Brian AA. Direct evidence for two affinity states for lymphocyte function-associated antigen 1 on activated T cells [published erratum appears in *J Biol Chem* 1994; 10184]. *J Biol Chem* 1993; 268: 21693–700.
- Mackay CR, Marston WL, Dudler L. Naive and memory T cells show distinct pathways of lymphocyte recirculation. *J Exp Med* 1990; 171: 801–17.

- Mackay CR. Migration pathways and immunologic memory among T lymphocytes. *Semin Immunol* 1992; 4: 51–8.
- Mackay CR. Homing of naive, memory and effector lymphocytes. *Curr Op Immunol* 1993; 5: 423-7.
- Martin-Padura I, Lostaglio S, Schneemann M, Williams L, Romano M, Fruscella P, et al. Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *J Cell Biol* 1998; 142: 117–27.
- Moore KL, Stults NL, Diaz S, Smith DF, Cummings RD, Varki A, et al. Identification of a specific glycoprotein ligand for P-selectin (CD62) on myeloid cells. *J Cell Biol* 1992; 118: 445–56.
- Morales J, Homey B, Vicari AP, Hudak S, Oldham E, Hedrick J, Orozco R, Copeland NG, Jenkins NA, McEvoy LM, Zlotnik A. CTACK, a skin-associated chemokine that preferentially attracts skin-homing memory T cells. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96(25): 14470-5.
- Mori Y, Kaname H, Sumida Y, Tanaka S, Kubo C, Tashiro N, Nomoto K. Changes in the leukocyte distribution and surface expression of adhesion molecules accompanied with hypothalamically induced restlessness in the cat. *NeuroImmunoModulation* 2000; 7: 135-46.
- Morse SI, Barron DA. Studies on the leukocytosis and lymphocytosis induced by *Bordetella pertussis*. 3. The distribution of transfused lymphocytes in pertussis-treated and normal mice. *J Exp Med* 1970; 132: 663–72.
- Neeck G, Federlin K, Graef V, Schatz H, Schmidt KL. Endokrine Rhythmen bei Patienten mit rheumatoider Arthritis: Mögliche neurohormonelle Beeinflussung immunologischer Reaktionen. *Immunität und Infektion* 1987; 15: 135-40.
- Nolte D, Schmid P, Jager U, Botzlar A, Roesken F, Hecht R, et al. Leukocyte rolling in venules of striated muscle and skin is mediated by P-selectin, not by L-selectin. *Am J Physiol* 1994; 267: H1637–42.
- Olson TS, Ley K. Chemokines and chemokine receptors in leukocyte trafficking. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2002; 283(1): R7-28.
- Onsrud M und Thorsby E. Influence of in vivo hydrocortisone on some human blood lymphocyte subpopulations. *Scand J Immunol* 1981; 13: 573-9.

- Oosterhuis B, ten Berge IJM, Schellekens PTA, van Boxtel CJ. Concentration-dependent effects of prednisolone on mixed lymphocyte culture in humans. *J Pharmacol Exp Therap* 1987; 243: 716-22.
- Pachynski RK, Wu SW, Gunn MD, Erle DJ. Secondary lymphoid tissue chemokine (SLC) stimulates integrin alpha 4 beta 7-mediated adhesion of lymphocytes to mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) under flow. *J Immunol* 1998; 161: 952-6.
- Palm S, Postler E, Hinrichsen H, Maier H, Zabel P, Kirch W. Twenty-four-hour analyses of lymphocyte subpopulations and cytokines in healthy subjects. *Chronobiology Int* 1996; 13(6): 423-34.
- Pals ST, Drillenburger P, Radaszkiewicz T, Manten-Horst E. Adhesion molecules in the dissemination of Non-Hodgkin's Lymphoma. *Acta Haematol* 1997; 97: 73-80.
- Pardi R, Inverardi L, Rugarli C, Bender JR. Antigen-receptor complex stimulation triggers protein kinase C-dependent CD11a/CD18-cytoskeleton association in T lymphocytes. *J Cell Biol* 1992; 116: 1211-20.
- Pardi R, Bossi G, Inverardi L, Rovida E, Bender JR. Conserved regions in the cytoplasmic domains of the leukocyte integrin alpha L beta 2 are involved in endoplasmic reticulum retention, dimerization, and cytoskeletal association. *J Immunol* 1995; 155: 1252-63.
- Picker LJ, Warnock RA, Burns AR, Doerschuk CM, Berg EL, Butcher EC. The neutrophil selectin LECAM-1 presents carbohydrate ligands to the vascular selectins ELAM-1 and GMP-140 [published erratum appears in *Cell* 1991; 1267]. *Cell* 1991; 66: 921-33.
- Picker LJ. Physiological and molecular mechanisms of lymphocyte homing. *Annu Rev Immunol* 1992; 10: 561-91.
- Picker LJ, Treer JR, Ferguson-Darnell B, Collins PA, Bergstresser BR, Terstappen LW. Control of lymphocyte recirculation in man. II. Differential regulation of the cutaneous lymphocyte-associated antigen, a tissue-selective homing receptor for skin-homing T cells. *J Immunol* 1993; 150: 1122-36.
- Picker LJ. Control of lymphocyte homing. *Curr Opin Immunol* 1994; 6: 394-406.
- Pincus G. A diurnal rhythm in the excretion of urinary ketosteroids by young men. *J Clin Endocrinol Metab* 1943; 3: 195-9.

- Pitzalis C, Kingsley GH, Covelli M, Meliconi R, Markey A, Panayi GS. Selective migration of the human helper-inducer memory T Cell subset: confirmation by in vivo cellular kinetic studies. *Eur J Immunol* 1991; 21: 369–76.
- Raffael A, Nebe CT, Valet G. Grundlagen der Durchflusszytometrie. In: Schmitz G, Rothe G. *Durchflusszytometrie in der klinischen Zelldiagnostik*. Schattauer, Stuttgart 1994; 3-48.
- Renold AE, Jenkins D, Forsham PH, Thorn GW. The use of intravenous ACTH: A study in quantitative adrenocortical stimulation. *J Clin Endocr* 1952; 12: 763.
- Ritchie AWS, Oswald I, Micklem HS, Boyd JE, Elton RA, Jazwinska E, James K. Circadian variation of lymphocyte subpopulations: A study with monoclonal antibodies. *Br Med J* 1983; 286: 1773-5.
- Roth SJ, Diacovo TG, Brenner MB, Rosat JP, Buccola J, Morita CT, et al. Transendothelial chemotaxis of human alpha/beta and gamma/delta T lymphocytes to chemokines, *Eur J Immunol* 1998; 28: 104–13.
- Rothlein R, Dustin ML, Marlin SD, Springer TA. A human inter-cellular adhesion molecule (ICAM-1) distinct from LFA-1. *J Immunol* 1986; 137: 1270–4.
- Rutgeerts P, Van Deventer S, Schreiber S. Review article: the expanding role of biological agents in the treatment of inflammatory bowel disease - focus on selective adhesion molecule inhibition. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003; 17(12): 1435-50.
- Saetta M, Mariani , Panina-Bordignon P, Turato G, Buonsanti C, Baraldo S, Bellettato CM, Papi A, Corbetta L, Zuin R, Sinigaglia F and Fabbri LM. Increased expression of the chemokine receptor CXCR3 and its ligand CXCL10 in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Americ J Resp Crit Care Med.* 2002; Vol 165: 1404-1409.
- Salmi M, Jalkanen S. A 90-kilodalton endothelial cell molecule mediating lymphocyte binding in humans. *Science* 1992; 257: 1407–1409.
- Salmi M, Jalkanen S. How do lymphocytes know where to go: Current concepts and enigmas of lymphocyte homing. *Adv Immunol* 1997; 64: 139-218.
- Salmi M, Tohka S, Jalkanen S. Human vascular adhesion protein-1 (VAP-1) plays a critical role in lymphocyte-endothelial cell adhesion cascade under shear. *Circ Res* 2000; 86: 1245.

- Sastry SK, Horwitz AF. Integrin cytoplasmic domains: mediators of cytoskeletal linkages and extra- and intracellular initiated trans-membrane signaling. *Curr Opin Cell Biol* 1993; 5: 819–31.
- Scales WE, Vander AJ, Brown MB, Kluger MJ. Human circadian rhythms in temperature, trace metals and blood variables. *J App Physiol* 1988; 65 (4): 1840-6.
- Shaw AFB. The diurnal tides of the leukocyte in man. *J Path Bact* 1927; 30: 1-9.
- Signore A, Cugini P, Letizia C, Lucia P, Murano G, Pozzilli P. Study of the diurnal variation of human lymphocyte subsets. *J Clin Lab Immunol* 1985; 17: 25-8.
- Singer SJ. Intercellular communication and cell-cell adhesion. *Science* 1992; 255: 1671–7.
- Smith MD, Ahern MJ, Brooks PM, Roberts-Thomson PJ. The clinical and immunological effects of pulse methylprednisolone therapy in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1988; 15; 238-41.
- Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990; 346: 425–34.
- Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and emigration: the multistep paradigm. *Cell* 1994; 76: 301–14.
- Springer TA. Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Annu Rev Physiol* 1995; 57: 827–72.
- Stamper HB Jr, Woodruff JJ. Lymphocyte homing into lymph nodes; in vitro demonstration of the selective affinity of recirculating lymphocytes for high-endothelial venules. *J Exp Med* 1976; 144: 828–33.
- Staunton DE, Dustin ML, Springer TA. Functional cloning of ICAM-2, a Cell adhesion ligand for LFA-1 homologous to ICAM-1. *Nature* 1989; 339: 61–4.
- Stein JV, Rot A, Luo Y, et al. The CC chemokine thymus-derived chemotactic agent 4 (TCA-4, secondary lymphoid tissue chemokine, 6Ckine, exodus-2) triggers lymphocyte function-associated antigen 1-mediated arrest of rolling T lymphocytes in peripheral lymph node high endothelial venules. *J Exp Med* 2000; 191: 61-76.
- Stewart MP, McDowall A, Hogg N. LFA-1-mediated adhesion is regulated by cytoskeletal restraint and by a Ca²⁺-dependent pro-tease, calpain. *J Cell Biol* 1998; 140: 699–707.

- Streeter PR, Berg EL, Rouse BT, Bargatze RE, Butcher EC. A tissue-specific endothelial cell molecule involved in lymphocyte homing. *Nature* 1988; 331: 41–6.
- Suzuki A, Andrew DP, Gonzalo JA, Fukumoto M, Spellberg J, Hashiyama M, et al. CD34-deficient mice have reduced eosinophil accumulation after allergen exposure and show a novel cross-reactive 90-kD protein. *Blood* 1996; 87: 3550–62.
- Suzuki S, Toyabe S, Moroda T, Tsukahara A, Hai T, Mingawa M, et al. Circadian rhythm of leucocytes and lymphocyte subsets and its possible correlation with the function of the autonomic nervous system. *Clin Exp Immunol* 1997; 110: 500-8.
- Swoyer J, Irvine P, Sackett-Lundeen L, Conlin L, Lakatua DJ, Haus E. Circadian hematologic time structure in the elderly. *Chronobiology Int* 1989; 6: 131-7.
- Syrbe U, Siveke J, Hamann A. TH1/TH2 subsets: Distinct differences in homing and chemokine receptor expression. *Springer Seminars in Immunopathology* 1999; 263-85.
- Tanaka Y, Imai T, Baba M, Ishikawa I, Uehira M, Nomiyama H, and Yoshie O. Selective expression of liver and activation-regulated chemokine (LARC) in intestinal epithelium in mice and humans. *Eur J Immunol* 1999; 29: 633-642.
- Toft P, Tonnesen E, Svendsen P, Rasmussen JW. Redistribution of lymphocytes after cortisol administration. *APMIS* 1992; 100: 154-8.
- Toft P, Hokland M, Hansen TG, Tonnesen E. Changes in lymphocyte subpopulations and adhesion/activation molecules following endotoxemia and major surgery. *APMIS* 1995; 103: 261-66.
- Thomson SP, McMahon LJ, Nugent CA. Endogenous cortisol: A regulator of the number of lymphocytes in peripheral blood. *Clin immunol Immunopath* 1980; 17: 506-14.
- Tsuzuki Y, Miura S, Suematsu M, Kurose I, Shigematsu T, Kimura H, et al. alpha 4 integrin plays a critical role in early stages of T lymphocyte migration in Peyer's patches of rats. *Int Immunol* 1996; 8: 287–95.
- van Ewijk W, Brons NH, Rozing J. Scanning electron microscopy of homing and recirculating lymphocyte populations. *Cell Immunol* 1975; 19: 245–61.
- von Andrian UH, Hasslen SR, Nelson RD, Erlandsen SL, Butcher EC. A central role for microvillous receptor presentation in leukocyte adhesion under flow. *Cell* 1995; 82: 989–99.

- Von Andrian UH, Mackay CR. T-cell function and migration. Two sides of the same coin. *N Engl J Med* 2000; 343: 1020-1034.
- Warnock RA, Campbell JJ, Dorf ME, Matsuzawa A, McEvoy LM, Butcher EC. The role of chemokines in the microenvironmental control of T versus B cell arrest in Peyer's patch high endothelial venules. *J Exp Med* 2000; 191: 77-88.
- Webel ML, Ritts RE, Taswell HF, Donadio JV, Woods JE. Cellular immunity after intravenous administration of methylprednisolone. *J Lab Clin Med* 1974; 83: 383-91.
- Weicker H, Werle E. Interactions between hormones and the immune system. *Int J Sports Med* 1991; 12: 30-7.
- Weitzman ED, Boyar RM, et al. The relationship of sleep and sleep stages to neuroendocrine secretion and biological rhythms in man. *Rec Progr Horm Res* 1975; 31: 399-445.
- Woodruff JJ, Clarke LM, Chin YH. Specific cell-adhesion mechanisms determining migration pathways of recirculating lymphocytes. *Annu Rev Immunol* 1987; 5: 201-22.
- Yu DTY, Clements PJ, Paulus HE, Peter JB, Levy J, Barnett EV. Human lymphocyte subpopulations: Effect of corticosteroids. *J Clin Invest* 1974; 53: 565-71.
- Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2000; 12: 121-127.
- Zocchi MR, Ferrero E, Leone BE, Rovere P, Bianchi E, Toninelli E, et al. CD31/PECAM-1-driven chemokine-independent transmigration of human T lymphocytes. *Eur J Immunol* 1996; 26: 759-67.

Anhang

Anhang 1

Rohdaten der 24-Stunden Gruppe

PARAMETER	Proband	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h	20 h	22 h	24 h	2 h	4 h	6 h	8 h
Cortisol	Pb 1	20,64	21,03	21,42	10,81	7,87	11,44	7,42	9,96	4,86	5,96	5,04	10,04	20,64
	Pb 2	29,54	24,73	15,4	11,57	12,42	10,07	7,01	5,79	8,15	3,92	3,44	7,08	29,54
	Pb 3	25,37	14,72	7,19	8,73	10,72	15,21	6,96	6,79	3,35	3,4	12,84	20,11	25,37
	Pb 4	13,19	10,97	16,15	7,39	6,72	5,55	10,4	8,34	2,69	1,02	0,4	2,18	13,19
	Pb 5	38,07	30,01	21,92	16,32	13,21	16,19	9,85	9,96	11,2	7,96	6,27	10,47	38,07
	Pb 6	15,2	13,8	5,26	12,52	4,12	2,6	4,54	11,01	3,89	1,28	3,09	13,82	15,2
	Pb 7	20,93	13,16	5,72	11,91	12,42	6,81	4,12	5,57	2,61	1,09	1,35	11,79	20,93
	Pb 8	16,78	16,06	11,4	10,68	10,77	8,82	6,96	6,03	3,05	1,98	13,63	16,03	16,78
	Pb 9	19,39	8,11	10,95	7,5	8,58	5,25	2,11	10,58	3,8	1,92	7,85	9,22	19,39
	Pb 10	52,07	32,47	18,62	18,17	26,98	31,17	18,53	8,77	5,71	10,18	9,54	29,73	46,92
	Pb 11	24,95	18,01	8,37	8,54	12,55	5,04	2,27	3,5	1,26	4,28	2,32	20,57	18,28
	Pb 12	28,28	15,33	6,27	8,19	10,34	11,58	3,17	1,88	0,91	1,11	1,45	20,18	25,44
	Pb 13	42,6	32,58	22,77	17,13	14,37	12,7	9,48	10,19	8,01	4,8	10,32	23,96	28,93
	Pb 14	27,93	12,81	5,06	9,53	7,93	12,03	5,26	2,83	2,1	1,78	0,96	11,2	10,39
Leukozyten	Pb 1	5300	4900	5200	6100	5300	5900	6600	6300	5500	6000	5800	5800	5300
	Pb 2	8100	7700	7400	8900	8100	9000	8900	9500	8100	8700	9000	7700	8100
	Pb 3	6700	6800	7000	8800	8100	7800	9000	9800	9400	9800	8300	7800	6700
	Pb 4	6200	5500	5600	5600	6300	5900	6800	6600	6300	7000	6300	6200	6200
	Pb 5	9600	9100	10900	11100	10800	10600	9700	10200	10300	9700	9400	9100	9600
	Pb 6	9900	8100	9500	10000	9600	9900	11200	11100	10400	9200	9200	9000	9900
	Pb 7	5200	5500	5500	5500	6500	6900	6100	7900	6500	5400	5200	5200	5200
	Pb 8	6700	6300	6800	7200	7800	8400	9200	8800	9200	7900	7800	8200	6700
	Pb 9	5600	5000	5000	5000	5300	6100	6200	6800	5900	6200	6000	4900	5600
	Pb 10	15100	14300	13200	13100	14300	14700	14900	15500	15400	13800	13700	12300	12100
	Pb 11	5500	4800	6100	6200	7100	6700	7000	6800	6800	7000	5800	6100	5000
	Pb 12	6100	5900	4800	5200	6900	6600	7100	8400	8600	7500	7500	6500	5900
	Pb 13	6500	6300	5200	5200	6000	6100	6600	7700	7500	7200	7200	6100	6300
	Pb 14	6300	8700	6000	4600	5500	6100	6300	6300	6300	5500	4700	4600	4900

PARAMETER	Proband	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h	20 h	22 h	24 h	2 h	4 h	6 h	8 h
Monozyten	Pb 1	480	340	310	370	320	470	400	440	390	480	520	520	480
	Pb 2	310	270	220	270	240	270	360	380	320	350	360	390	310
	Pb 3	600	480	490	620	370	470	450	590	750	880	580	700	600
	Pb 4	560	500	390	280	380	300	340	330	320	420	320	500	560
	Pb 5	480	460	550	440	430	540	490	510	520	490	470	460	480
	Pb 6	590	520	380	500	480	590	670	670	620	550	460	540	590
	Pb 7	310	390	330	220	330	370	410	320	330	270	260	360	310
	Pb 8	400	320	340	360	310	420	460	440	460	470	390	570	400
	Pb 9	450	350	350	400	370	430	430	480	350	370	420	390	450
	Pb 10	760	720	660	660	860	740	750	780	770	830	820	740	730
	Pb 11	550	480	490	500	570	600	560	540	680	700	580	670	600
	Pb 12	370	300	240	310	410	330	360	340	430	380	450	460	350
	Pb 13	460	380	260	260	360	370	400	540	450	360	500	430	440
	Pb 14	760	870	540	510	660	670	690	500	690	720	520	600	740
Granulozyten	Pb 1	2970	2890	2860	4210	3820	3600	4420	3970	3580	3360	3070	3250	2970
	Pb 2	4770	5130	5480	6680	5830	6030	5790	6370	5510	5050	5580	4540	4770
	Pb 3	4890	5960	5970	7040	5000	6420	6420	7840	7240	6760	6140	5300	4890
	Pb 4	3720	4130	4140	4420	4600	4540	5030	5150	4910	5040	4660	4090	3720
	Pb 5	5570	6010	7520	8210	7560	6910	6010	7140	7620	6310	6200	6190	5570
	Pb 6	5640	5920	6370	5800	6050	5640	5940	6110	6140	5240	5150	5040	5640
	Pb 7	2700	3360	3140	3690	4160	4150	3930	5290	4160	3020	3170	3070	2700
	Pb 8	4760	4600	5100	5470	6080	6380	6810	6420	6620	5530	5540	6070	4760
	Pb 9	3700	3400	3250	3100	3340	3970	3470	4220	3660	3600	3540	2940	3700
	Pb 10	11630	11730	10690	9960	10440	10880	11180	12090	11240	9380	9730	8610	8350
	Pb 11	3410	3500	4210	4650	4970	4760	4830	4620	4220	4410	3770	4030	3400
	Pb 12	3720	4370	3500	3540	4830	4880	4970	5960	5850	5400	5400	4750	4600
	Pb 13	3970	4280	3480	3330	3900	3780	4160	5010	4880	5110	4680	3970	4280
	Pb 14	2080	4000	2640	2020	2150	2620	2960	3280	2710	2590	2210	2120	2060

PARAMETER	Proband	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h	20 h	22 h	24 h	2 h	4 h	6 h	8 h
Lymphozyten	Pb 1	1860	1670	1980	1530	1170	1830	1780	1890	1540	2100	2150	2030	1860
	Pb 2	2620	2160	1700	1960	2030	2610	2760	2760	2350	3310	3060	2770	2620
	Pb 3	1210	1180	1170	1140	730	1050	1050	1370	1410	2160	1660	1790	1210
	Pb 4	1920	880	1060	900	1320	1060	1430	1120	1070	1540	1320	1610	1920
	Pb 5	3550	2640	2830	2440	2810	3350	3300	2550	2160	2810	2730	2460	3550
	Pb 6	3660	2350	2850	3700	3070	3560	4590	4330	3740	3400	3500	3420	3660
	Pb 7	2180	1760	1980	1600	2020	1650	2550	2290	2020	2110	1720	1770	2180
	Pb 8	1540	1390	1430	1370	1400	1600	1930	1940	2120	1900	1790	1560	1540
	Pb 9	1460	1250	1400	1500	1590	1710	2360	2110	1890	2230	2040	1520	1460
	Pb 10	2720	1860	1980	2360	2490	3090	2980	2640	3390	3590	3150	2950	3030
	Pb 11	1540	820	1400	1120	1490	1340	1610	1630	1900	1890	1450	1460	1000
	Pb 12	2010	1180	1060	1350	1730	1390	1780	2100	2240	1730	1650	1300	940
	Pb 13	2150	1640	1460	1560	1740	1950	2050	2230	2180	1730	2020	1710	1510
	Pb 14	3470	3920	2880	2070	2700	2870	2650	2580	2860	2200	1930	1890	2110
T-Lymphozyten	Pb 1	1530	1320	1470	1220	990	1520	1780	1890	1280	2100	1780	2030	1530
	Pb 2	2100	1710	1310	1590	1640	2040	2210	2150	1880	2780	2420	2300	2100
	Pb 3	650	700	700	750	450	730	730	1010	940	1430	1280	1250	650
	Pb 4	1400	710	800	660	950	780	1030	950	830	1110	1000	1210	1400
	Pb 5	3020	2220	2290	2050	2360	2810	2770	2170	1860	2390	2320	2070	3020
	Pb 6	2560	1670	1970	2330	2270	2170	3080	3030	2660	2480	2450	2510	2560
	Pb 7	1310	1280	1250	1200	1450	1190	1960	1810	1640	1710	1390	1400	1310
	Pb 8	1080	1040	1030	1010	1010	1180	1430	1530	1610	1480	1320	1190	1080
	Pb 9	1240	1050	1190	1280	1320	1470	1980	1790	1610	1940	1770	1260	1240
	Pb 10	2340	1560	1600	1940	2490	2470	2590	2300	2920	3090	2840	2600	2510
	Pb 11	770	540	920	750	800	910	1140	1210	1390	1400	1030	1040	650
	Pb 12	1490	930	810	1030	1230	1060	1350	1620	1680	1210	1340	1000	600
	Pb 13	1680	1380	1200	1330	1390	1540	1720	1870	1870	1450	1660	1350	1190
	Pb 14	2780	3160	2530	1820	2350	2410	2390	2240	2550	1940	1720	1680	1770

PARAMETER	Proband	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h	20 h	22 h	24 h	2 h	4 h	6 h	8 h
B-Lymphozyten	Pb 1	130	150	140	150	90	150	140	130	90	170	220	180	130
	Pb 2	310	280	240	250	240	290	250	330	310	430	460	330	310
	Pb 3	130	140	140	150	100	120	130	150	170	300	280	210	130
	Pb 4	290	120	150	120	180	180	240	120	130	290	180	290	290
	Pb 5	320	240	200	200	220	270	230	180	130	200	190	170	320
	Pb 6	290	210	260	630	490	710	1010	910	790	680	700	500	290
	Pb 7	280	260	320	180	200	170	310	270	200	230	210	210	280
	Pb 8	150	170	170	180	170	180	250	250	300	230	290	200	150
	Pb 9	130	140	140	140	170	140	240	210	190	220	160	150	130
	Pb 10	190	170	180	190	240	250	240	210	340	320	250	210	180
	Pb 11	110	70	120	120	180	160	190	210	230	260	190	220	110
	Pb 12	280	150	110	190	260	170	250	320	290	220	260	200	100
	Pb 13	190	80	90	110	160	200	140	130	150	140	200	190	150
	Pb 14	30	40	30	20	30	30	30	30	30	40	40	40	60
Suppressor-Zellen	Pb 1	630	580	890	500	510	660	660	790	600	800	810	810	630
	Pb 2	860	740	610	630	650	910	1020	910	750	960	860	780	860
	Pb 3	460	470	470	480	310	400	400	480	450	730	580	610	460
	Pb 4	670	340	420	350	570	460	500	450	410	600	500	600	670
	Pb 5	1420	1140	1250	1120	1210	1370	1450	1100	930	1180	1120	1110	1420
	Pb 6	1280	820	970	1110	1140	1140	1650	1260	1760	1600	1720	1500	1280
	Pb 7	500	500	500	460	710	580	820	710	610	630	500	500	500
	Pb 8	550	490	470	450	490	610	620	600	700	610	540	510	550
	Pb 9	530	460	520	560	540	600	870	650	680	830	730	560	530
	Pb 10	1090	730	830	970	1200	1330	1220	950	1420	1440	1230	1180	1160
	Pb 11	630	300	320	400	600	460	550	540	610	620	490	480	380
	Pb 12	560	310	270	320	420	350	390	500	540	380	400	330	240
	Pb 13	710	690	610	610	660	760	800	850	920	640	730	630	710
	Pb 14	1600	2040	1410	970	1350	1460	1300	1210	1420	990	950	930	990

PARAMETER	Proband	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h	20 h	22 h	24 h	2 h	4 h	6 h	8 h
Helfer-Zellen	Pb 1	990	840	810	860	590	990	940	960	820	1090	1060	1020	990
	Pb 2	1390	1110	830	1100	1120	1330	1380	1550	1060	1990	1840	1720	1390
	Pb 3	380	450	450	520	310	500	500	690	680	1100	860	930	380
	Pb 4	920	400	490	420	550	450	630	630	500	740	650	720	920
	Pb 5	1700	1240	1190	1150	1350	1680	1580	1250	1040	1410	1340	1180	1700
	Pb 6	1650	1150	1370	1520	1350	1570	2070	2120	1800	1630	1790	1720	1650
	Pb 7	1040	860	860	860	1010	810	1450	1310	1150	1200	1030	1040	1040
	Pb 8	740	720	730	710	700	780	1040	1070	1140	1010	1000	840	740
	Pb 9	770	590	730	830	890	970	1300	1220	1060	1230	1140	840	770
	Pb 10	1360	930	930	1130	1440	1450	1580	1370	1760	1940	1730	1530	1550
	Pb 11	590	370	430	550	640	630	820	900	1050	1040	770	730	470
	Pb 12	1290	800	570	810	1060	830	1140	1300	1390	1020	1010	860	550
	Pb 13	1160	890	670	810	900	990	1130	1200	1200	930	1090	890	1160
	Pb 14	870	710	750	640	700	690	740	720	830	730	660	590	650
Aktivierte	Pb 1	110	150	260	170	160	160	210	230	120	210	220	220	110
T-Lymphozyten	Pb 2	160	140	120	140	160	180	220	220	120	260	150	140	160
	Pb 3	20	50	50	80	60	60	70	70	70	130	100	70	20
	Pb 4	100	50	80	50	90	50	70	60	60	80	70	80	100
	Pb 5	250	160	200	170	140	170	200	130	130	170	110	100	250
	Pb 6	110	90	110	260	340	180	370	220	340	200	250	180	110
	Pb 7	170	110	100	80	140	100	180	140	120	80	70	70	170
	Pb 8	80	80	60	140	70	100	100	100	130	110	90	90	80
	Pb 9	90	50	40	80	80	90	170	80	90	110	100	80	90
	Pb 10	160	110	140	190	270	220	210	160	270	360	220	210	210
	Pb 11	80	40	60	80	70	80	110	80	80	90	120	60	50
	Pb 12	200	120	130	150	160	140	140	210	180	160	150	140	70
	Pb 13	130	130	140	140	160	200	210	200	240	160	120	100	110
	Pb 14	1560	2270	1410	970	1430	1550	1380	1260	1390	880	830	700	930

PARAMETER	Proband	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h	20 h	22 h	24 h	2 h	4 h	6 h	8 h
Natürliche	Pb 1	170	220	420	140	160	200	160	170	150	170	190	200	170
Killerzellen	Pb 2	210	200	200	140	140	260	300	280	140	200	120	110	210
	Pb 3	440	370	370	300	210	230	240	260	230	430	180	290	440
	Pb 4	170	70	140	110	170	110	140	130	90	120	80	100	170
	Pb 5	210	240	280	170	200	230	230	150	170	170	160	150	210
	Pb 6	660	400	510	700	460	500	600	390	410	270	250	460	660
	Pb 7	550	320	500	180	400	350	310	230	200	170	120	120	550
	Pb 8	350	290	340	250	310	350	290	270	280	170	180	200	350
	Pb 9	120	110	100	110	100	120	140	110	110	110	120	90	120
	Pb 10	220	170	220	210	330	430	210	130	200	220	190	210	150
	Pb 11	620	220	350	270	430	270	270	240	230	250	250	250	230
	Pb 12	440	150	140	120	220	180	180	190	200	100	100	120	160
	Pb 13	220	250	220	160	210	210	250	220	200	160	160	150	150
	Pb 14	660	780	350	250	320	550	290	260	380	240	170	210	250

Anhang 2

Rohdaten der Tag-Gruppe

PARAMETER	Proband	8 h	9 h	10 h	11 h	11,30 h	12 h	12,30 h	13 h	13,30 h	14 h	15 h	16 h
Cortisol	Pb 1	20,38	28,97	32,9	38,13	35,7	31,81	31,74	28,07	20,61	18,98	13,9	10,15
	Pb 2	24,9	26,88	33,13	27,43	27,04	25,45	21,59	18,07	16,38	14,89	10,22	8,12
	Pb 3	21,43	37,57	36,84	42,87	41,63	32,97	32,09	26,99	23,53	19,68	15,18	11,28
	Pb 4	15,45	30,97	32,49	33,1	28,3	32,46	21,76	19,15	16,64	12,92	10,37	9,29
	Pb 5	27,99	37,1	44,51	38,24	34,46	30,97	25,12	20,68	16,96	12,82	11,1	8,62
	PB 6	14,48	20,15	22,29	21,66	28,48	26,39	20,49	17,26	14,24	11,13	9,64	7,49
	Pb 7	25,32	34,71	39,87	40,51	35,13	32,26	32,04	27	25,69	21,74	18,9	14,29
Leukozyten	Pb 1	6400	6300	7800	9100	8200	7700	8100	7900	6700	6600	6400	6500
	Pb 2	5500	5300	7600	6900	6600	6300	6400	5800	5700	5400	5400	5000
	Pb 3	5600	5100	4700	5500	5600	5600	6600	8100	8300	8100	8200	8600
	Pb 4	3900	4000	6300	6900	6600	6100	5800	5600	6200	5200	5300	5500
	Pb 5	6600	6500	6700	10600	10500	10000	10300	9100	8500	8400	8400	8600
	PB 6	6500	7600	8900	8200	8100	8100	7900	7900	7800	7900	7700	9600
	Pb 7	4100	4200	4300	4700	4700	6100	5900	6300	7700	6500	7300	5900
Monozyten	Pb 1	580	440	390	360	250	230	240	240	130	130	190	200
	Pb 2	220	160	150	140	70	130	60	60	60	110	110	100
	Pb 3	340	310	190	170	110	110	130	160	80	160	160	170
	Pb 4	200	200	130	280	130	60	120	60	120	100	110	170
	Pb 5	330	330	260	210	210	200	210	90	170	170	250	260
	PB 6	300	300	450	330	240	240	240	235	230	320	230	480
	Pb 7	370	420	300	380	190	240	240	250	390	33	290	300
Granulozyten	Pb 1	4420	4790	6470	8010	7380	6850	6890	7030	6160	5870	5570	5660
	Pb 2	3470	4190	6690	6140	5870	5670	5700	5100	4850	4480	4370	3850
	Pb 3	2970	3110	3290	4180	4420	4480	5480	7130	7390	7050	6970	7140
	Pb 4	2690	2880	5540	5590	5680	5310	4990	4870	5390	4420	4450	4350
	Pb 5	4880	4880	7400	9430	9450	9100	9370	8190	7570	7140	7060	6560
	PB 6	5930	5930	6940	6480	6640	6720	6560	6555	6550	6400	6240	7200
	Pb 7	2830	2770	3230	3570	3900	5120	4900	5420	6390	5330	6060	4660

PARAMETER	Proband	8 h	9 h	10 h	11 h	11,30 h	12 h	12,30 h	13 h	13,30 h	14 h	15 h	16 h
Lymphozyten	Pb 1	1410	1070	860	730	570	620	890	630	400	590	640	650
	Pb 2	1870	900	680	620	590	570	640	640	800	860	920	1050
	Pb 3	2300	1680	1220	1210	1010	1010	990	890	830	970	1070	1290
	Pb 4	1010	920	630	1040	730	670	700	620	740	680	800	990
	Pb 5	1390	1300	960	950	840	800	820	820	770	1090	1090	1120
	PB 6	1370	1370	1510	1310	1220	1130	1110	1060	1010	1190	1230	1920
	Pb 7	900	1010	770	710	610	730	710	630	920	910	950	890
T-Lymphozyten	Pb 1	960	790	630	450	360	410	570	410	250	430	380	410
	Pb 2	1330	680	520	430	410	390	470	450	540	580	640	760
	Pb 3	1730	1290	940	750	710	670	710	610	530	630	740	890
	Pb 4	700	630	380	570	330	360	390	370	410	430	480	530
	Pb 5	990	1070	750	670	600	590	580	620	570	810	820	840
	PB 6	920	920	910	1040	770	710	620	610	600	880	930	1340
	Pb 7	690	750	550	510	430	500	500	440	630	660	670	650
B-Lymphozyten	Pb 1	160	140	120	80	70	70	90	70	50	90	80	90
	Pb 2	150	110	80	60	70	60	70	60	70	90	120	130
	Pb 3	250	130	110	100	100	100	110	90	70	80	110	130
	Pb 4	80	90	40	80	40	60	60	60	60	80	80	90
	Pb 5	130	140	120	120	110	100	110	110	100	150	140	180
	PB 6	110	110	90	130	90	90	80	80	80	120	150	170
	Pb 7	80	110	70	50	50	80	80	80	80	90	100	100
Suppressor-Zellen	Pb 1	320	240	170	190	140	150	280	130	100	200	170	170
	Pb 2	690	250	220	220	210	210	240	230	270	300	380	360
	Pb 3	670	540	380	390	340	310	380	320	300	300	350	440
	Pb 4	390	360	300	440	340	310	320	270	300	290	330	420
	Pb 5	410	430	290	340	300	300	340	300	320	350	440	400
	PB 6	300	400	330	470	380	350	420	380	340	480	380	600
	Pb 7	300	340	260	290	230	280	260	280	370	350	370	340

PARAMETER	Proband	8 h	9 h	10 h	11 h	11,30 h	12 h	12,30 h	13 h	13,30 h	14 h	15 h	16 h
Helfer-Zellen	Pb 1	730	650	520	370	310	300	420	320	180	440	300	330
	Pb 2	880	520	350	280	280	270	290	290	340	410	400	490
	Pb 3	1290	910	660	560	440	460	470	380	340	390	450	570
	Pb 4	490	440	210	340	220	220	250	250	270	290	320	350
	Pb 5	790	730	520	430	370	350	340	410	350	510	490	500
	Pb 6	700	700	480	600	400	370	440	430	420	580	540	710
	Pb 7	430	460	320	280	230	280	260	250	370	350	350	390
Aktivierte T-Lymphozyten	Pb 1	110	90	60	70	60	50	90	40	20	60	60	70
	Pb 2	220	80	70	70	60	60	90	60	100	120	160	140
	Pb 3	50	50	20	20	20	20	50	40	30	30	40	40
	Pb 4	60	90	30	30	40	30	40	30	40	30	40	50
	Pb 5	80	100	70	70	50	60	70	70	70	80	100	90
	Pb 6	50	50	60	60	60	50	40	45	50	70	40	60
	Pb 7	30	40	20	20	20	30	40	30	50	50	50	40
Natürliche Killerzellen	Pb 1	300	130	110	180	110	130	320	150	90	150	150	150
	Pb 2	410	90	100	120	110	130	110	120	160	150	180	140
	Pb 3	230	200	130	250	200	180	180	190	220	220	220	260
	Pb 4	270	180	280	400	270	280	260	220	280	200	260	360
	Pb 5	80	140	80	120	130	140	140	130	150	130	200	170
	Pb 6	150	150	330	390	380	450	390	350	310	270	230	560
	Pb 7	130	130	140	170	180	200	150	150	230	230	230	170

Anhang 3

Rohdaten der Nacht-Gruppe

PARAMETER	Proband	20 h	21 h	22 h	23 h	0 h	1 h	2 h	4 h	6 h
Cortisol	Pb 1	10,12	24,41	26,39	26,09	22,82	13,58	11,3	4,89	2,35
	Pb 2	12,48	37,35	45,25	41,72	40,49	30,59	24,68	17,6	12,35
	Pb 3	12,86	26,61	33,96	28,83	23,77	17,29	12,81	6,2	4,09
	Pb 4	2,52	19,81	23,98	26,43	22,95	11,62	0	4,74	2,75
	Pb 5	3,74	24,3	32,07	34,41	28,9	21,14	15,07	6,48	3,49
	Pb 6	1,08	14,45	21,88	24,03	20,79	14,48	8,07	3,78	1,99
	Pb 7	8,87	16,11	22,8	25,05	21,23	12,22	8	11,06	3,58
	Pb 8	15,44	40,73	47,85	52,2	45,98	38,86	30,58	20,36	13,33
	Pb 9	4,89	23,67	26,39	27,24	20,46	15,17	11,82	4,92	5,81
Leukozyten	Pb 1	6800	7000	7000	5400	6400	6400	5600	5800	5900
	Pb 2	8700	7800	10000	8800	9000	8100	7800	7400	8800
	Pb 3	7200	7000	8500	9100	8400	7600	7300	6700	6700
	Pb 4	7000	6600	8900	8500	7500	6900	6900	6800	7000
	Pb 5	8200	7600	10300	14400	12400	11900	10900	9400	9300
	Pb 6	7800	7800	7800	14900	14000	12200	11300	10100	9700
	Pb 7	9500	7800	9800	13800	13300	12800	11900	11700	11000
	Pb 8	16900	17800	17300	17000	16300	15100	14200	13800	13200
	Pb 9	7400	7500	11300	10600	9200	8900	9100	8800	8600
Monozyten	Pb 1	340	350	280	220	320	320	280	290	350
	Pb 2	350	310	300	180	180	160	160	300	350
	Pb 3	430	420	340	360	250	300	370	400	470
	Pb 4	490	460	450	340	230	140	210	340	490
	Pb 5	660	680	820	720	370	480	440	470	740
	Pb 6	470	550	550	600	420	370	340	510	580
	Pb 7	470	470	490	410	270	260	240	350	440
	Pb 8	1010	890	1040	850	650	600	550	620	790
	Pb 9	440	450	570	320	280	270	360	440	520

PARAMETER	Proband	20 h	21 h	22 h	23 h	0 h	1 h	2 h	4 h	6 h
Granulozyten	Pb 1	4690	4620	5040	4210	4990	5120	4370	4120	4130
	Pb 2	6440	6010	8600	7830	7920	7130	6940	6140	7390
	Pb 3	4100	4270	6890	7370	6890	6080	5550	4820	4490
	Pb 4	4410	4090	6940	7230	6530	5930	5800	5240	4970
	Pb 5	5820	5170	8340	12670	11160	10590	9590	7900	7350
	Pb 6	4520	4370	4600	12520	12040	10490	9380	7680	6600
	Pb 7	4600	4600	7640	11870	11700	11260	10000	9240	8470
	Pb 8	13180	14600	14360	14790	14340	13140	12160	10980	10690
	Pb 9	5110	5180	9270	9010	8000	7650	7640	7040	6360
Lymphozyten	Pb 1	1770	2030	1680	920	1150	960	950	1390	1420
	Pb 2	1910	1480	1100	790	810	810	700	1040	1140
	Pb 3	2660	2310	1280	1270	1260	1290	1390	1470	1740
	Pb 4	2170	2050	1510	1020	830	830	900	1220	1610
	Pb 5	1640	1750	1130	1010	870	830	870	1030	1300
	Pb 6	2810	2890	2650	1790	1540	1340	1580	1920	2520
	Pb 7	3140	2730	1670	1380	1330	1410	1670	2110	1980
	Pb 8	2870	2310	1900	1360	1300	1360	1450	1680	1850
	Pb 9	1850	1950	1470	1170	920	980	1090	1410	1720
T-Lymphozyten	Pb 1	1380	1620	1290	760	750	740	720	1030	1080
	Pb 2	1320	1210	890	630	640	650	530	790	790
	Pb 3	2100	1890	970	990	1000	980	1140	1120	1310
	Pb 4	1670	1640	1150	750	530	610	590	950	1560
	Pb 5	1080	1650	1370	970	830	840	820	1060	1870
	Pb 6	2190	2140	1990	1380	1170	1020	1250	1540	1860
	Pb 7	1880	2160	1400	1080	1020	1040	1250	1650	1490
	Pb 8	2300	1920	1500	1020	1010	1050	1100	1370	1520
	Pb 9	1520	1580	1210	950	740	750	840	1100	1340

PARAMETER	Proband	20 h	21 h	22 h	23 h	0 h	1 h	2 h	4 h	6 h
B-Lymphozyten	Pb 1	230	260	200	90	90	90	110	190	200
	Pb 2	190	180	100	70	80	70	80	110	140
	Pb 3	240	230	140	130	100	150	140	160	170
	Pb 4	280	290	200	120	100	90	120	200	350
	Pb 5	180	280	230	170	160	160	170	220	430
	Pb 6	340	380	290	210	140	90	140	210	330
	Pb 7	220	300	200	140	120	110	170	190	180
	Pb 8	200	160	150	120	100	120	130	150	170
	Pb 9	220	270	160	120	100	140	160	210	280
Suppressor-Zellen	Pb 1	510	590	450	290	370	320	320	400	430
	Pb 2	940	610	480	380	420	410	350	470	550
	Pb 3	1380	1110	500	550	540	630	700	760	840
	Pb 4	480	430	300	200	190	200	230	280	520
	Pb 5	660	780	530	500	530	630	580	660	1010
	Pb 6	960	980	850	630	590	480	600	670	810
	Pb 7	1170	1170	580	540	600	650	750	840	770
	Pb 8	1210	950	780	610	590	680	680	700	720
	Pb 9	720	670	620	480	410	390	490	560	840
Helfer-Zellen	Pb 1	940	1040	910	500	600	490	470	720	740
	Pb 2	690	680	510	320	330	330	260	410	420
	Pb 3	850	850	540	480	430	440	460	510	660
	Pb 4	1390	1230	940	600	460	460	500	740	1260
	Pb 5	790	1270	1050	590	490	600	580	780	1440
	Pb 6	1490	1470	1430	910	740	670	810	980	1290
	Pb 7	1530	1530	1040	730	660	650	800	990	1010
	Pb 8	1230	1040	860	570	520	540	620	710	890
	Pb 9	890	740	600	490	350	330	380	560	740

PARAMETER	Proband	20 h	21 h	22 h	23 h	0 h	1 h	2 h	4 h	6 h
Aktivierte T-Lymphozyten	Pb 1	90	100	80	50	50	40	60	70	70
	Pb 2	60	60	40	30	30	20	30	20	30
	Pb 3	740	550	260	280	320	350	390	370	370
	Pb 4	150	140	110	50	70	70	80	100	200
	Pb 5	80	120	70	30	50	60	70	70	200
	Pb 6	140	120	110	50	80	70	80	80	100
	Pb 7	250	250	130	80	90	130	100	150	100
	Pb 8	230	180	80	80	100	140	110	130	90
	Pb 9	130	200	100	50	60	40	70	100	170
Natürliche	Pb 1	180	140	130	80	140	110	120	150	110
Killerzellen	Pb 2	420	100	100	90	120	110	110	120	180
	Pb 3	290	210	80	170	160	190	150	180	190
	Pb 4	280	230	120	110	140	150	150	150	220
	Pb 5	510	420	210	500	540	490	450	460	600
	Pb 6	280	400	240	210	260	190	270	230	230
	Pb 7	270	270	100	140	210	300	270	300	260
	Pb 8	370	280	230	190	180	230	210	230	150
	Pb 9	110	80	100	80	80	80	100	80	120

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt dem Betreuer der Arbeit, Herrn Professor Dr. Neeck. Durch seine ständige Bereitschaft mit Rat und Unterstützung zur Seite zu stehen hat er dem langwierigen Prozess des Abschließens dieser Arbeit, trotz der vielen Umzüge, Stellenwechsel und sonstigen Veränderungen, zu einem guten Ende verholfen.

Ebenfalls zu Dank verpflichtet bin ich Dr. Rusch für seine Erklärungen und Hilfe hinsichtlich der statistischen Auswertung und des Verständnisses der verwendeten Cosinormethodik dieser Arbeit.

Weiterer Dank gilt den Labormitarbeitern der Kerckhoff Klinik und des Labors der Blutbank der Justus-Liebig-Universität, ohne die diese Arbeit nicht so reibungslos vonstatten hätte gehen können.

Natürlich möchte ich mich auch bei den Probandinnen und Probanden bedanken ohne die eine solche Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Insbesondere gilt mein Dank hierbei Herrn Rainer Menneken für dessen hilfreiche Unterstützung in vielen Diskussionen.

Mein letzter Dank, aber vielleicht der tiefste, gilt meinen Eltern, meinem Bruder und natürlich meiner Lebensgefährtin Britta, die die lange Zeit der Entstehung dieser Arbeit begleitet und mich immer wieder motiviert haben.

